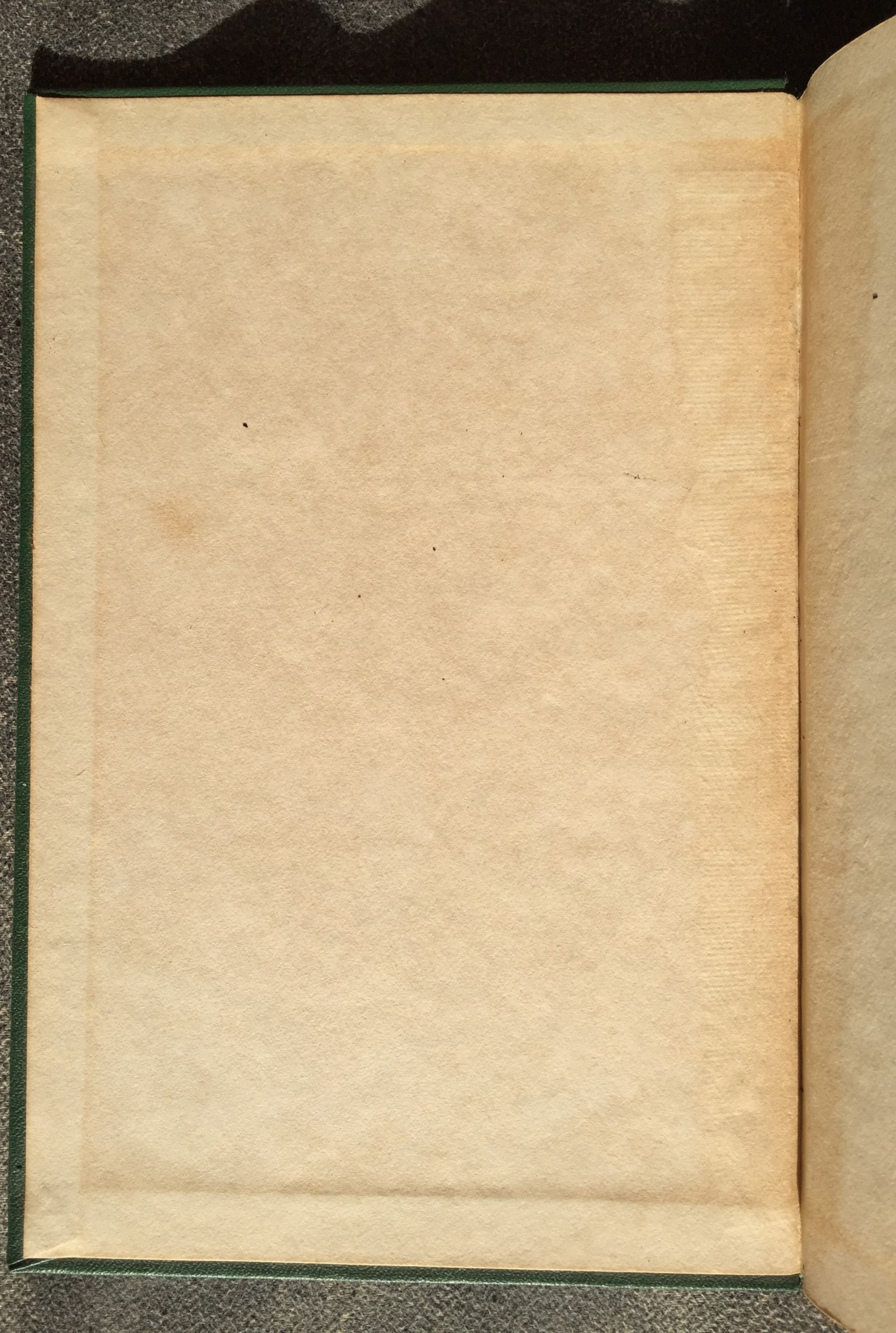


АКАДЕМИЯ НАУК СССР

А.М. КУЗИН

РАДИАЦИОННАЯ  
БИОХИМИЯ











А К А Д Е М И Я   Н А У К   С С С Р  
И Н С Т И Т У Т   Б И О Ф И З И К И

---

А. М. КУЗИН

# РАДИАЦИОННАЯ БИОХИМИЯ

---

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР  
Москва 1962



Ответственный редактор  
доктор биологических наук Н. Н. ДЕМИН

ПРЕ

В п  
соврем  
щих из  
вещест

В на  
влекает  
в живой  
проявлен  
ний в эт  
тическое  
дет небес  
считана  
курсов, ж  
биохимии  
внимание  
главам к  
тер, и в  
характери

Радиаци  
щие в кле  
действия  
кие закон  
ются пред  
в данную

С друг  
процессами  
щими осно  
рассматрив  
ности ради



# ОПЕЧАТКИ И ИСПРАВЛЕНИЯ

Страница	Строка	Напечатано	Должно быть
47	15 св.	16—60 тыс.	10—60 тыс.
331	24 сн.	Перекиси органические 32—34, 37,	Перекись водорода 27—29, 31—33,

А. М. Кузин. Радиационная биохимия.



# ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие . . . . .	3
Введение . . . . .	5

## I раздел

### ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ ВЕЩЕСТВА

1 глава. Физическая характеристика ионизирующих излучений и их взаимодействия с веществом . . . . .	15
2 глава. Действие ионизирующих излучений на воду . . . . .	25
3 глава. Образование перекисей под влиянием ионизирующей радиации . . . . .	31
4 глава. Действие ионизирующих излучений на простые белки и продукты их распада . . . . .	40
5 глава. Действие ионизирующих излучений на нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды и другие сложные белки . . . . .	65
6 глава. Действие ионизирующих излучений на углеводы . . . . .	89
7 глава. Действие ионизирующих излучений на липиды . . . . .	98
8 глава. Действие ионизирующих излучений на ферменты и витамины . . . . .	107

## II раздел

### ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ И ТКАНЯХ

1 глава. Влияние ионизирующей радиации на активность ферментов <i>in vivo</i> . . . . .	130
2 глава. Влияние ионизирующей радиации на состояние и обмен нуклеопротеидов и нуклеиновых кислот . . . . .	157
3 глава. Влияние ионизирующей радиации на обмен белков . . . . .	200
4 глава. Влияние ионизирующей радиации на углеводный обмен . . . . .	220
5 глава. Влияние ионизирующей радиации на обмен липидов . . . . .	236
6 глава. Влияние ионизирующей радиации на минеральный обмен . . . . .	253
7 глава. Образование токсических веществ в облученном организме . . . . .	264
8 глава. Биофизико-химическая интерпретация лучевого поражения клетки . . . . .	281
Заключение . . . . .	310
Именной указатель . . . . .	311
Предметный указатель . . . . .	325



---

## ПРЕДИСЛОВИЕ

В предлагаемой книге была предпринята попытка осветить современное состояние наших знаний о воздействии ионизирующих излучений на биологически значимые вещества и на обмен веществ в клетке и тканях.

В настоящее время внимание радиобиологов все более привлекается к тем нарушениям метаболизма, которые, возникая в живой клетке в результате ее облучения, приводят к видимым проявлениям радиационного поражения. Количество исследований в этом направлении очень велико, и нам кажется, что критическое рассмотрение и обобщение имеющегося материала будет небезынтересно для работающих в этой области. Книга рассчитана на научных работников, аспирантов, студентов старших курсов, желающих специализироваться в области радиационной биохимии. Для понимания основного материала, принимая во внимание различную подготовку читателей, автор предпосылает главам краткие вступления, носящие более популярный характер, и в первой главе излагает основные элементы физической характеристики ионизирующей радиации.

Радиационная биохимия рассматривает процессы, возникающие в клетке тотчас после первичных физических явлений воздействия радиации на вещество. Физические и физико-химические закономерности воздействия радиации на вещество являются предметом химической физики и поэтому они не вошли в данную монографию.

С другой стороны, радиационная биохимия имеет дело с процессами, предшествующими и, по-видимому, обуславливающими основные биологические эффекты действия радиации, рассматриваемые радиобиологией. Поэтому общие закономерности радиобиологии, хотя и упоминаются неизбежно в ра-



диационной биохимии, также не являются предметом ее специального рассмотрения.

Радиационная биохимия — пограничная дисциплина, которая в наши дни еще только определяется. С удовлетворением можно отметить появление в отечественной литературе таких книг, как «Обмен веществ при лучевой болезни» И. И. Иванова, В. С. Балабуха, Е. Ф. Романцева, Т. А. Федоровой (1956); «Элементы радиационной биохимии» Н. Ф. Липкан (1958); «Ионизирующее излучение и обмен веществ» коллектива авторов во главе с Л. С. Черкасовой (1962). Однако при попытке систематического изложения радиационной биохимии возникли большие трудности, и в предлагаемой читателю книге, несомненно, можно найти недостатки.

Автор будет благодарен за любые критические замечания, которые он мог бы учесть в последующей работе.

ВВЕД

Р а д  
о б м  
и о н  
м о с в я з  
г и ч е с к  
П о  
щ е с т в  
н е и  
б и о л о  
с а с я  
С  
я с н е н  
б и о х и  
г и и , я  
р а д и о  
м а т ь  
С  
и р а з  
И  
н и к а  
б и о х  
р о д у  
К  
о т н о  
р е з у  
п о л е  
л и ч н  
н а п р  
1—2  
и л и  
н е с к  
п о л  
э н е р  
э л е



## ВВЕДЕНИЕ

**Р**адиационная биохимия изучает изменение состояния и обмена веществ в живом организме при действии на него ионизирующих излучений, последовательную картину взаимосвязанных биохимических процессов, обуславливающих биологическую реакцию организма на облучение.

Поскольку радиационная биохимия исследует изменение веществ под влиянием радиации в живом организме, она не может не интересоваться результатами воздействия радиации на биологически важные изолированные вещества, тесно соприкасаясь таким образом с радиационной химией.

С другой стороны, преследуя задачу дать рациональное объяснение биологическому действию радиации, радиационная биохимия соприкасается с основными проблемами радиобиологии, являясь ее частью. Опираясь на радиационную биохимию, радиобиология может не только описывать явления, но и понимать причины их возникновения.

Связь и зависимость радиационной биохимии от состояния и развития общей биохимии очевидна [1].

Ионизирующие излучения (ядерные излучения, проникающая радиация), действие которых изучает радиационная биохимия, имеют электромагнитную или корпускулярную природу.

К ионизирующим излучениям электромагнитной природы относится рентгеновское излучение, возникающее в результате торможения свободных электронов в электрическом поле атомных ядер вещества анода. Рентгеновские трубки различной конструкции, в зависимости от величины приложенного напряжения, дают рентгеновы лучи с энергией от 50 кэв до 1—2 Мэв. Специальные ускорители—бегатроны, синхротроны и линейные ускорители, ускоряя электроны до энергии порядка нескольких десятков и даже сотен Мэв, дают возможность получать тормозное рентгеновское излучение с максимальной энергией квантов, равной десяткам и сотням Мэв.

Вторым распространенным видом ионизирующей радиации электромагнитной природы являются  $\gamma$ -излучения радиоак-



тивных природных и искусственных элементов. При радиоактивном распаде часто имеет место переход возбужденного ядра в стабильное состояние с испусканием одного или нескольких  $\gamma$ -квантов. Энергия  $\gamma$ -лучей колеблется от нескольких десятков  $\text{кэв}$  до 2—3  $\text{Мэв}$ .

К ионизирующим излучениям корпускулярной природы относят  $\beta$ - и  $\alpha$ -лучи радиоактивных изотопов, потоки ускоренных электронов, протонов и дейтронов, получаемые в современных ускорителях, нейтронные излучения и космические лучи.

Имеется некоторая общность между лучами электромагнитной и корпускулярной природы. Электромагнитные излучения выделяются и поглощаются определенными порциями — квантами, что позволяет рассматривать электромагнитное излучение как поток фотонов, аналогично потоку электронов, нейтронов при корпускулярном излучении.

С другой стороны, известно, что распространение корпускулярных лучей в определенных условиях подчиняется законам распространения электромагнитных лучей — явления рефракции, дифракции, отражения корпускулярных лучей могут быть объяснены, исходя из представления об их электромагнитной природе. Существенной характеристикой ионизирующих излучений является энергия фотона, энергия элементарной частицы.

Энергия фотона — электромагнитных излучений — определяется частотой колебания  $E = h\nu$ , где  $h$  — постоянная Планка, равная  $6,54 \cdot 10^{-27} \text{ эрг/сек} = 4,14 \cdot 10^{-15} \text{ эв/сек}$ , а  $\nu$  — частота колебаний.

Как известно,  $\nu$  связана с длиной волны  $\lambda$  электромагнитного излучения уравнением:

$$\nu = \frac{C}{\lambda},$$

где  $C$  — скорость света, равная  $3 \cdot 10^{10} \text{ см/сек}$ , откуда энергия фотона может быть выражена:

$$E = \frac{h \cdot C}{\lambda}.$$

Таким образом, чем больше частота колебаний и соответственно меньше длина волны, тем больше энергия фотона.

Энергия частиц корпускулярных излучений (кинетическая энергия) зависит от массы частицы и скорости ее движения:

$$E = \frac{mv^2}{2}.$$

Так как скорости движения частиц соизмеримы со скоростью света, то обычно мы имеем дело с величинами порядка тысяч и миллионов электронвольт, т. е. энергетически они эквивалентны жестким  $\gamma$ -лучам. Взаимодействие корпускулярных



излучений с веществом определяется не только энергией элементарной частицы, но и ее массой и зарядом.

Электромагнитные излучения разной длины волны неодинаково воздействуют на вещества, а следовательно и на живые организмы. Излучения с длиной волны более десяти метров (электрические и радиоволны) не поглощаются атомными, молекулярными и надмолекулярными структурами живых организмов. Поэтому они не оказывают какого-либо действия на вещества и на процессы обмена в живых организмах.

Ультракороткие волны, легко проникая внутрь веществ, вызывают вибрационные колебания молекул, которые приводят к нагреванию веществ.

Интенсивность воздействия УКВ будет изменяться в зависимости от полярных свойств молекул, состава среды и длины волны. При этом наблюдается неравномерный прогрев различных веществ, а при действии на организм — избирательное разогревание его тканей. В этом случае энергия кванта  $10^{-8}$ — $10^{-5}$  эв опять-таки далеко не достаточна для осуществления химических процессов. Миллиметровые лучи, которые поглощаются в большей степени, и примыкающие к ним инфракрасные лучи в основном оказывают также тепловое воздействие.

Сильно поглощаются инфракрасные лучи с энергией фотона от 0,0004 до 0,04 эв. Поглощенная энергия целиком превращается в кинетическую энергию молекул и атомов и происходит прогревание. Излучения с энергией фотона 0,4—4 эв составляют область видимого света. В этой области отмечается большая избирательность поглощения, обусловленная молекулярным строением вещества. Под влиянием поглощенной энергией определенные молекулярные структуры переходят в возбужденное состояние, которое обуславливает изменение их химической реакционной способности. В области видимого света отмечается отчетливо выраженное действие излучений на живые организмы, которое проявляется в фототропизме бактерий, простейших и растений, а также в процессе фотосинтеза и в воздействии на зрительные рецепторы животных и человека.

Большой способностью к поглощению обладают излучения, прилегающие к фиолетовой части видимого спектра и получившие название ультрафиолетовых излучений (УФ).

Обладая величиной энергии фотона от 4 до 40 эв и частотой колебания, резонирующей с частотами атомарных электронов, фотоны ультрафиолетовых лучей легко поглощаются электронами валентных связей. Это приводит не только к ослаблению, но и распаду связей в молекуле, появлению свободных радикалов и, следовательно, резкому изменению химической активности веществ. Бактерицидное, эритемное и антирахитное действие УФ являются наиболее известными проявлениями биологического действия этого вида радиации. Электромагнитные излучения



еще большей частоты ( $>10^{16}$  циклов/сек) поглощаются уже любыми электронами атомов.

Большая величина энергии фотона (400 эв и более) оказывается вполне достаточной не только для возбуждения атома или молекулы, но и для выброса электрона за пределы атома (молекулы), что приводит к образованию заряженного иона.

Ионизирующим действием обладают не только рентгеновы и  $\gamma$ -лучи, но и близкие к ним по своей энергии корпускулярные излучения:  $\beta$ -,  $\alpha$ -лучи, быстрые нейтроны и другие.

В виду общности механизмов воздействия на вещество, эти виды излучений часто объединяют под общим понятием ионизирующих излучений.

Таким образом, ионизирующие излучения представляют собой ту часть электромагнитных и корпускулярных излучений, где фотоны, или элементарные частицы, обладают большой энергией (свыше 400 эв), что обуславливает ряд особенностей, проявляющихся при воздействии этих излучений на вещество и на живой организм. Интерес к пониманию действия ионизирующей радиации на вещество и процессы обмена веществ в живом организме возник почти тотчас же после открытия Рентгеном лучей, носящих теперь его имя, и после открытия радиоактивности Беккерелем и супругами Кюри.

Благодаря малодоступности и редкости источников ионизирующих излучений, в первые десятилетия нашего столетия были проведены только разрозненные и относительно примитивные исследования.

Положение резко изменилось после блестящих успехов ядерной физики, приведших в середине нашего столетия к замечательным открытиям в области атомной энергии и превращений атомов.

Создание атомных реакторов, бурное развитие уранодобывающей и перерабатывающей промышленности, получение в больших масштабах искусственно-радиоактивных веществ, создание и массовые испытания атомных и водородных бомб, приведшие к загрязнению радиоактивными веществами всего земного шара, большая распространенность и доступность новых источников ионизирующей радиации, наконец, последние успехи в освоении космоса — все это привело к тому, что ионизирующие излучения как новый, мощный фактор внешней среды приобрели в наши дни исключительное значение. Это привело к возникновению и интенсивному развитию новых дисциплин, направленных на исследование воздействия этого фактора, таких, как радиобиология, радиационная химия [2].

Исследование специфики воздействия ионизирующей радиации на сложные высокополимерные вещества, составляющие основу живых организмов, и на обмен веществ составляют предмет изучения новой науки — радиационной биохимии.



мии, основы которой мы и попытаемся изложить в данной книге.

Следует помнить, что при воздействии ионизирующих излучений наряду со спецификой проявляются закономерности, ранее установленные при изучении действия видимого света и ультрафиолетовых излучений, которые подробно излагаются в курсах фотохимии [3]. Здесь целесообразно рассмотреть только некоторые из них, которые будут интересовать нас в этой книге.

### **Общие закономерности действия излучений на вещество**

1. Только та часть излучений может вызвать изменение (физического или химического характера) в веществе, которая поглощается соответствующим веществом. Отраженная или проходящая энергия не оказывает никакого действия.

Впервые это положение было высказано Гроттгусом в 1819 г. при рассмотрении химического действия видимых лучей различного цвета.

В 1895 г. К. А. Тимирязев, проводя свои замечательные исследования фотохимических процессов, идущих при освещении в зеленом листе растения, формулирует положение Гроттгуса как основной закон фотохимии. Так как этот закон является прямым следствием закона сохранения энергии, то, естественно, он распространяется на все виды излучений, включая и ионизирующие излучения.

Поэтому при установлении количественных закономерностей между величиной воздействующей энергии и оказанным ею действием необходимо измерять не общее количество падающей энергии, а количество энергии, поглощенное объектом.

В радиационно-биохимических исследованиях очень часто количество ионизирующей радиации выражают в «рентгенах».

За единицу дозы излучения «рентген» ( $R$ ) принимается такое количество поглощенной энергии, которое в  $1 \text{ см}^3$  сухого воздуха, взятого при нормальных условиях ( $0,001293 \text{ г}$ ), образует число ионов одного знака, которое дает заряд, равный одной абсолютной единице заряда. Один рентген соответствует поглощенной энергии  $0,114 \text{ эрг/см}^3$ . Следовательно, при дозе в  $1 R$  в одном грамме воздуха будет поглощена энергия, равная  $88 \text{ эрг}$ .

Энергия, поглощенная в ткани, будет несколько большей (на  $4-10\%$ ), чем в воздухе, так как атомный состав и средний атомный номер воды и тканей организма, с одной стороны, и



воздуха — с другой, несколько различаются. Для  $\gamma$ -лучей с энергией от 100 кэв до 3 Мэв она будет близка к 92—97 эрг.

Количество поглощенной энергии в тканях будет значительно возрастать при облучении  $\gamma$ -квантами с меньшей энергией. Еще бóльшие изменения количества поглощенной энергии будут иметь место при переходе к корпускулярным излучениям. Поэтому для измерения поглощенной дозы любого вида ионизирующего излучения была предложена единица «фэр» — физический эквивалент рентгена. За 1 фэр принимается энергия, поглощенная в 1 г ткани при любом виде ионизирующих излучений, равная энергии, поглощенной при облучении ее рентгеновыми или  $\gamma$ -лучами дозой в 1 р.

Следовательно, 1 фэр = 97 эрг/г. В 1953 г. на VII Международном конгрессе радиологов в Копенгагене была предложена новая единица измерения — «рад». За 1 рад принимается энергия любого вида ионизирующей радиации, поглощенная в 1 г облучаемой среды, равная 100 эрг. Приведенные выше данные для воды, растворов органических веществ и живой ткани показывают, что единицы рентген, фэр и рад очень близки между собой [4, 5, 6].

При нейтронном облучении обычно говорят о «потоке нейтронов», т. е. количестве нейтронов, проходящих за 1 сек. через сферу, имеющую площадь сечения, равную 1 см<sup>2</sup>. Конечно, эта величина не характеризует полностью количеств поглощенной энергии. При равных потоках нейтронов поглощенная энергия будет варьировать в зависимости от энергии нейтронов и состава облучаемого вещества. В первую очередь поглощение энергии нейтронов будет определяться процентным содержанием водорода в облучаемой среде, что следует особо учитывать в радиационнобиохимических исследованиях [7].

2. Поглощение электромагнитных излучений может происходить лишь целыми квантами —  $E = h\nu$ .

При поглощении фотонов видимой и ближней ультрафиолетовой области спектра, т. е. фотонов с энергией, не превосходящей 20 эв, поглощенный квант энергии расходуется на смещение электрона с одного уровня энергии на другой, что переводит молекулу в возбужденное состояние.

Дальняя область ультрафиолетовой части спектра и мягкое рентгеновское излучение с энергией фотонов порядка 100—1000 эв, передавая энергию фотона электрону, могут не только возбудить молекулу, но и привести к отрыву электрона от электронной оболочки атома. При этом энергия фотона расходуется на преодоление сил, удерживающих электрон в атоме и на сообщение ему кинетической энергии.

$$h\nu = \omega + E_{\text{кин}}$$



( $h\nu$  — энергия фотона,  $\omega$  — энергия связи электрона в атоме,  $E_{\text{кин}}$  — кинетическая энергия, переданная вырванному электрону). Этот вид поглощения получил название фотоэлектрического поглощения.

С увеличением энергии вероятность фотоэлектрического поглощения падает в неодинаковой степени для различных веществ. Наиболее быстро она уменьшается для веществ из легких атомов, т. е. для органических веществ биологических тканей. При энергиях 300—400 кэв вероятность фотоэлектрического поглощения становится ничтожно малой. При взаимодействии фотона с веществом поглощение лучистой энергии происходит в основном за счет некогерентного рассеяния (комptonовский эффект). Высокоэнергетический фотон, сталкиваясь с электроном внешней оболочки атома, поглощается, причем его энергия идет на отрыв электрона, сообщение ему кинетической энергии и на образование нового фотона с меньшей энергией, т. е.

$$h\nu = \omega + E_{\text{кин.}} + h\nu',$$

где  $\nu > \nu'$  и, следовательно,  $h\nu > h\nu'$ .

Как при фотоэлектрическом эффекте, так и при некогерентном рассеянии происходит ионизация вещества. Наконец, фотоны с энергией, превышающей 1,02 Мэв, взаимодействуя с ядрами атомов, могут быть поглощены за счет образования двух элементарных частиц — электрона и позитрона. Этот процесс получил название образования пар. Однако для легких элементов значимость этих превращений невелика, так же как и ядерного фотоэффекта, наблюдаемого при взаимодействии с ядром фотонов с энергией в несколько Мэв.

При поглощении энергии корпускулярных излучений характер взаимодействия с веществом усложняется в зависимости от массы частицы, ее заряда и энергии. Характер этих изменений будет рассмотрен ниже.

3. Квант электромагнитных излучений поглощается всегда одной молекулой.

Число поглощенных квантов равно числу поглощающих молекул

$$n = \frac{E}{h\nu},$$

где  $n$  — число поглощающих молекул,  $E$  — поглощенная энергия.

Молекулы, поглотившие низкоэнергетический квант, переходят в возбужденное состояние и могут вступать в химические реакции, обычно не идущие при данной температуре. Отношение количества прореагировавших молекул к количеству поглощенных квантов носит название квантового выхода реакции. Если бы каждая активированная моле-



кула вступала в химическое взаимодействие, то квантовый выход реакции был бы равен 1. Это наблюдается редко.

Многие из возбужденных молекул теряют свою энергию, не успев вступить в химическую реакцию, и тогда квантовый выход  $< 1$ . С другой стороны, часто наблюдается, что фотоактивирование приводит к экзотермической реакции. Выделяющаяся энергия возбуждает другие молекулы, и тогда квантовый выход оказывается больше единицы в десятки, сотни и даже тысячи раз.

Квантовый выход реакции оказывается больше единицы и при возникновении цепных реакций.

Кванты с большой энергией способны при некогерентном рассеянии перевести в активное состояние большое количество молекул. Первоначальный квант постепенно деградирует в кванты с меньшей энергией, причем в каждом таком элементарном акте деградации происходит возбуждение, или ионизация молекулы.

При исследовании действия ионизирующей радиации на растворы часто говорят о «ионном выходе реакции», определяя его как количество измененных молекул на одну пару ионов:  $M/N$  (где  $M$  — количество измененных молекул, а  $N$  — число образовавшихся при облучении пар ионов).

4. При действии ионизирующих излучений на вещество следует различать два процесса.

Первичный процесс заключается в непосредственном взаимодействии фотона или частицы с молекулой и приводит к образованию возбужденных молекул, ионов или осколков молекулы — радикалов.

Вторичный процесс включает в себя последующие превращения возбужденных молекул, ионов или радикалов. Так как энергия ионизирующих излучений намного выше кинетической энергии молекул, то первичный процесс не зависит от температуры реагирующих веществ. Зависимость реакции, идущей под влиянием облучения от температуры, указывает на наличие сложных вторичных процессов, обуславливающих конечную скорость реакции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. А. Г. Пасынский, Н. Н. Демин. Биохимия, 25, 3, 385, 1960.
2. А. М. Кузин. Изв. АН СССР, серия биол., № 3, 355, 1960.
3. А. Соеп, G. Jung, J. Daimer. Photochemie. Wien, 1929.
4. К. К. Аглинцев. Дозиметрия ионизирующих излучений. М.—Л., Гос. Изд. Техн. лит. 1950.
5. К. К. Аглинцев. Основы дозиметрии ионизирующих излучений. Медгиз, 1954.
6. G. J. Hine, G. L. Brownell. Radiation dosimetry, N. Y., 1956.
7. Б. М. Исаев. Биофизика, 5, 4, 479, 1960.
8. A. Hollaender. Radiation biology, I, 1, N. Y.—London, 1954.



I раздел

---

**ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ  
НА БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ  
ВЕЩЕСТВА**



ФИЗИЧ  
ИОНИЗ  
И ИХ В

Как уж  
носят  
ше 40

Рентгена  
мическо  
жат и к  
веществ,  
получаем  
нов и др

Рассм

рующих

ством [1-

$\beta$ -Лу

лучи и

тельно

ростью,

скорости

(0,000548

абсолют

тивных в

личных у

от неско

нов элек

В таб

встречаю

Элект

мого пут

атомов. И

ной лома

ряется д

ронных п

живой т

На р

симости



## ФИЗИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ВЕЩЕСТВОМ

Как уже указывалось выше, к ионизирующим излучениям относят электромагнитные излучения с энергией фотона выше 400 эв, в основном мягкие, жесткие и сверхжесткие лучи Рентгена,  $\gamma$ -лучи радиоактивных веществ и  $\gamma$ -составляющие космического излучения. К ионизирующим излучениям принадлежат и корпускулярные излучения:  $\beta$ - и  $\alpha$ -лучи радиоактивных веществ, катодные лучи, нейтронное излучение, искусственно получаемые потоки ускоренных электронов, протонов, дейтронов и других частиц, космические излучения.

Рассмотрим основные характеристики каждого вида ионизирующих излучений и особенности их взаимодействия с веществом [1—4].

$\beta$ -Лучи радиоактивных веществ и катодные лучи имеют общую природу, являясь потоком отрицательно заряженных электронов,двигающихся со скоростью, приближающейся к скорости света (от 0,29 до 0,998 скорости света). Электроны, обладая ничтожно малой массой (0,000548 ат. ед. массы или  $\frac{1}{1800}$  массы атома водорода, или в абсолютных единицах массы  $9,106 \cdot 10^{-28}$  г), в  $\beta$ -лучах радиоактивных веществ, в катодных лучах и в электронных пучках различных ускорителей могут обладать весьма различной энергией от нескольких десятков тысяч до нескольких десятков миллионов электронвольт.

В табл. 1 приведены энергии электронов в наиболее часто встречающихся излучениях.

Электрон, проникая в вещество, будет отклоняться от прямого пути под влиянием электростатических и магнитных полей атомов. Благодаря этому его путь представляется зигзагообразной ломаной линией. Величина пробега  $\beta$ -лучей в воздухе измеряется десятками сантиметров, а у высокоэнергетических электронных пучков может достигать и несколько метров. В воде и в живой ткани величина пробега значительно меньше.

На рис. 1 представлены величины пробега  $\beta$ -частиц в зависимости от энергии.



Энергии электронов наиболее распространенных источников

Т а б л и ц а 1

Источник излучения	Название излучения	Энергия электронов, Мэв
Катодные трубки при 100—500 кв.	Катодные лучи	0,079—0,340
Радиоактивные вещества		
третий Н <sup>3</sup> . . . . .		0,0179
углерод С <sup>14</sup> . . . . .		0,155
сера S <sup>35</sup> . . . . .	β-Лучи	0,169
кальций Са <sup>45</sup> . . . . .		0,254
фосфор Р <sup>32</sup> . . . . .		1,708
Ускорители		
бетатрон, линейные ускорители и другие . . . . .		1—100 и выше
фазотрон . . . . .	Электронные пучки	600
синхрофазотрон (космотрон) . .		12 000

Из графика видно, что β-излучения наиболее часто встречающихся источников проникают в живую ткань лишь на глубину 0,2—0,5 см. Только ускорители, дающие электронные пучки с энергией в несколько миллионов электронвольт, могут обеспечить облучение ткани на глубину нескольких сантиметров. Электроны большой энергии, проходя через вещество, взаимодействуют в основном с электронами электронных оболочек атомов и молекул. При этом взаимодействии β-частица отдает часть своей энергии электрону атомной оболочки, продолжая дви-

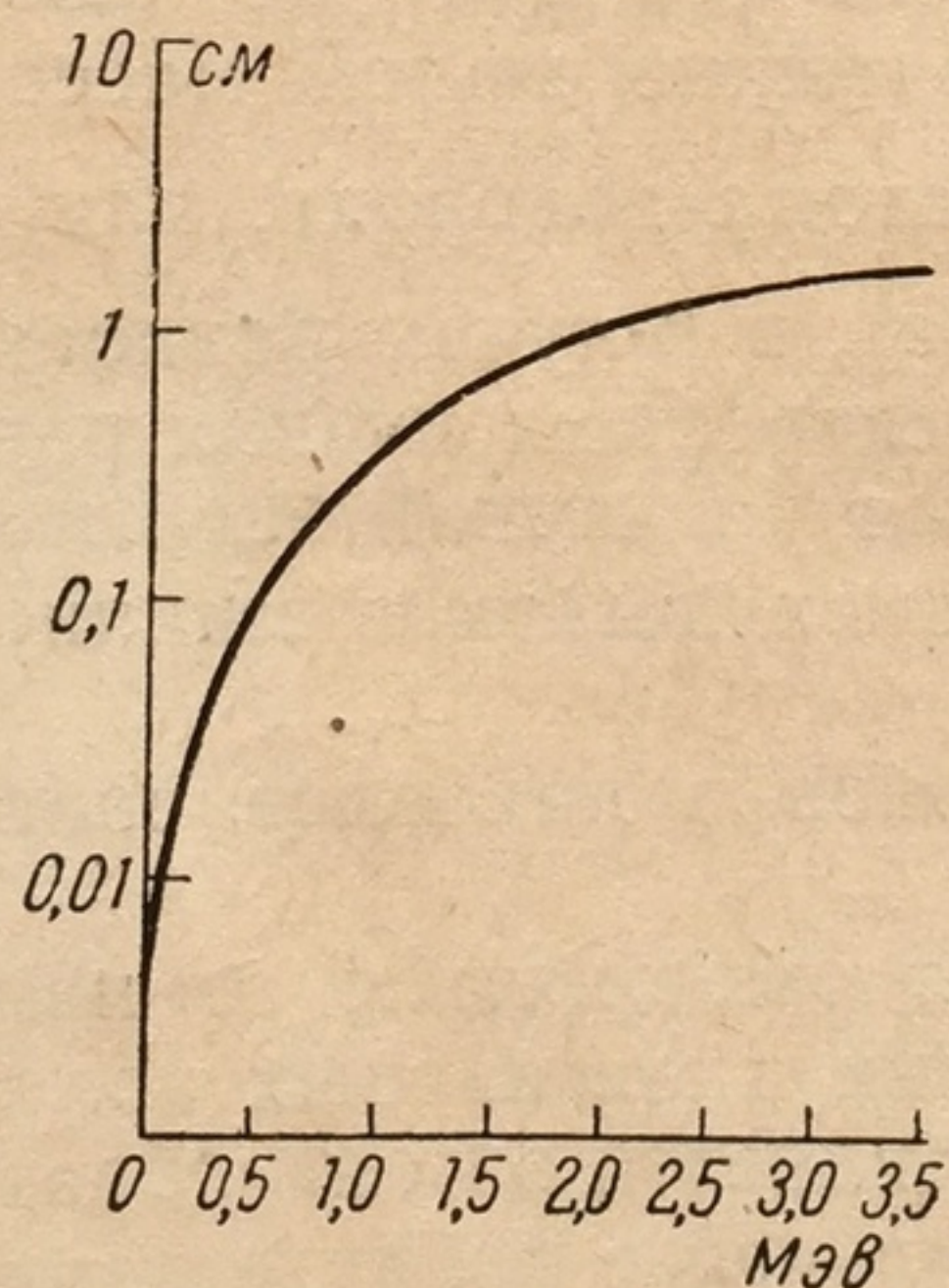


Рис. 1. Величина пробега β-частицы в воде в зависимости от энергии частицы

гаться с уменьшенной энергией и скоростью. На своем пути β-частица может осуществить до 200 и более таких взаимодействий. При отдаче электрону сравнительно небольшого количества энергии β-частица может вызвать переход электрона на более высокий энергетический уровень, что приведет атом или молекулу в возбужденное состояние. При передаче большего количества энергии, достаточного, чтобы вырвать электрон из атома, произойдет ионизация атома или молекулы. При этом вырванный электрон за счет полученной энергии сам возбуждает или ионизирует несколько атомов, и затем, потеряв большую часть своей энергии, он захватывается нейтральным атомом или молекулой, образуя отрицательно заряженный ион.





Рис. 2. Треки  $\beta$ -частиц в камере Вильсона



Наконец, сравнение  $\beta$ -частиц к передаче ему освобожденный ряд ионизаций

Около одной молекулы ионизируемых выбитыми вторичными парами ионов обычной ионизации — это

в биологическом действии молекул. Д. плотность ионов в микроне ткани.

Так как размеры с размерами атомов, то и вероятность ее столкновения велика, что и приводит к ионизации по пути прохода. Эта картина видна на рис. 2, где сона.

Плотность ионизации. Из табл. 2 следует, что при пробегах частиц (удельная ионизация)

Плотность ионизации. Вначале, когда

#### Зависимость

Энергия частицы	Потеря энергии в воде
В кэВ	
0,1	
1,0	
10,0	
100,0	
В МэВ	
1	
3	
15	

2 А. М. Кузнецов



Наконец, сравнительно редко, возможно как бы прямое попадание  $\beta$ -частицы в электрон атомной оболочки, что приводит к передаче ему значительного количества энергии. При этом освобожденный вторичный электрон сам способен осуществить ряд ионизаций и возбуждений, подобно исходной  $\beta$ -частице.

Около одной трети всех ионизируемых атомов ионизируется исходной  $\beta$ -частицей, а остальные — выбитыми вторичными электронами. При образовании каждой пары ионов обычно появляются две-три возбужденные молекулы.

Ионизация — это наиболее сильная форма химической активации молекул. Для последующих, вторичных реакций, как и для биологического действия в целом, существенное значение имеет плотность ионизации, т. е. количество ионов, образуемое в микроне ткани.

Так как размеры  $\beta$ -частицы ничтожно малы по сравнению с размерами атома и межатомными расстояниями, то вероятность ее столкновения с электронами внешних орбит весьма невелика, что и приводит к сравнительно небольшой плотности ионизации по пути  $\beta$ -частицы, а именно, около 7—9 ионов на микрон ткани. Эта малая плотность ионизации  $\beta$ -лучей наглядно видна на рис. 2, где изображен трек от  $\beta$ -частицы в камере Вильсона.

Плотность ионизации зависит также от энергии частицы. Из табл. 2 следует, что чем меньше энергия частицы, тем меньше пробег частицы и тем значительнее плотность ионизации (удельная ионизация).

Плотность ионизации неодинакова на протяжении пути  $\beta$ -частицы. Вначале, когда энергия частицы велика, плотность иони-

Таблица 2

Зависимость удельной ионизации и величины пробега от энергии  $\beta$ -частиц

Энергия частицы	Потеря энергии в воде, кэв/мк	Удельная ионизация пар ионов, мк	Пробег в воде
В кэв			
0,1	33,23	1030	0,003 мк
1,0	12,33	380	0,05 мк
10,0	2,3	71	2,5 мк
100,0	0,42	13	141 мк
В Мэв			
1	0,20	6,3	4,95 мм
3	0,20	6,3	16,3 мм
15	0,20	6,3	70 мм



зации мала. По мере того, как частица теряет свою энергию, плотность ионизации возрастает и приобретает значительные величины в самом конце пути. На рис. 3 графически представлена

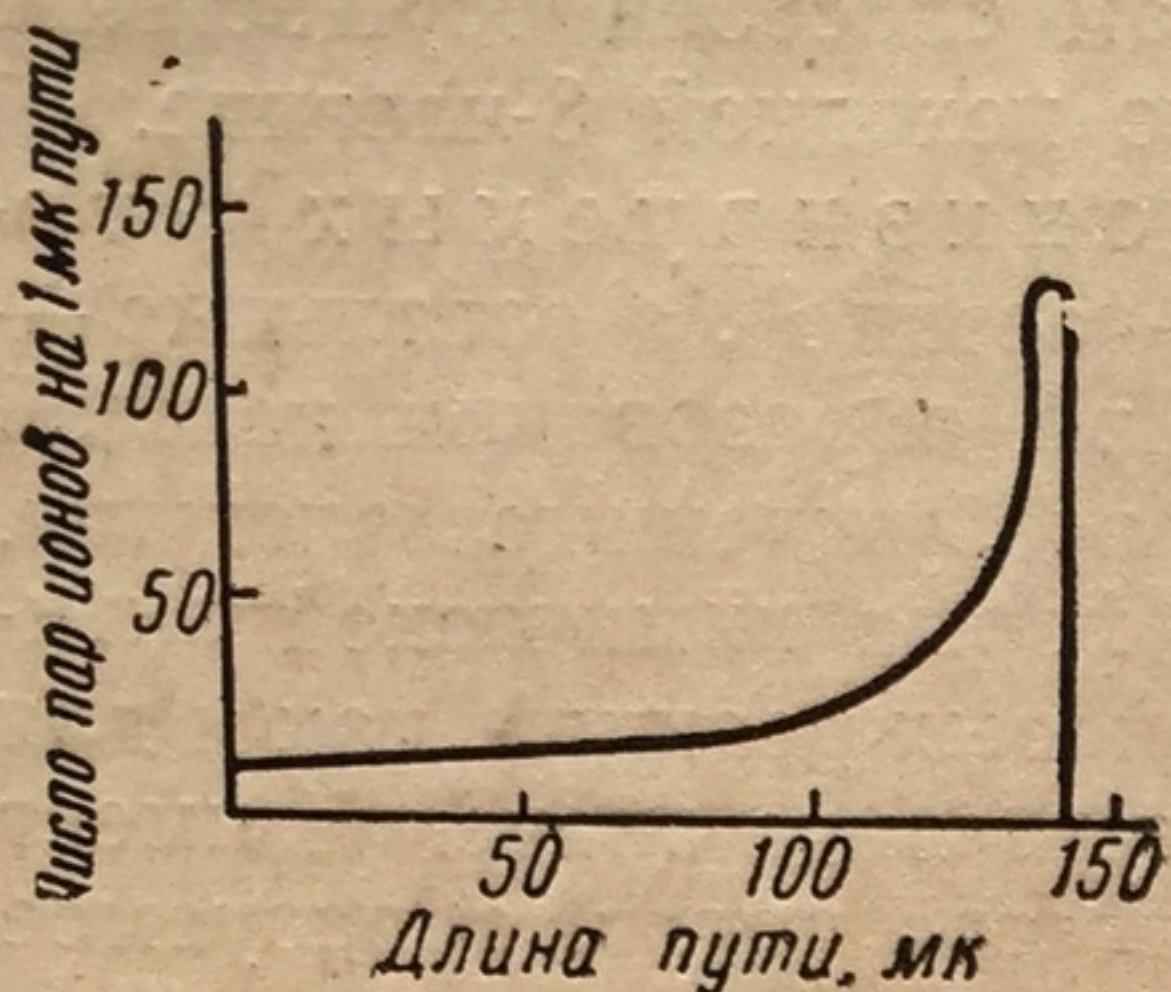


Рис. 3. Удельная ионизация в воде вдоль пути пробега электрона с энергией 100 кэв

удельная ионизация в воде вдоль пути пробега электрона.

Приведенные закономерности характерны для электронов с энергией меньше 1 Мэв. При больших энергиях, порядка нескольких Мэв и выше, плотность ионизации вдоль пути электрона приблизительно постоянна.

В конце пробега, в силу многократного рассеяния электронов происходит расширение узкого электронного пучка и даже небольшое уменьшение плотности ионизации.

С другой стороны, пучок большого поперечного сечения в силу накладывания эффекта от рассеянных частиц на эффект, вызываемый прямыми частицами, имеет несколько большую плотность в конце длины пробега. Электроны с энергиями порядка 40 Мэв уже могут вызвать ядерные расщепления. Однако и при этих энергиях число таких расщеплений столь незначительно, что может не приниматься во внимание при анализе их биохимического действия.

Рентгеновы и  $\gamma$ -лучи — электромагнитные излучения с длиной волны от 15 до 0,001 Å распространяются со скоростью света. Эти излучения можно рассматривать также как поток нейтральных частиц-фотонов, обладающих энергией от 200 эв до 100 Мэв и выше.

В табл. 3 приведены физические характеристики этих излучений от наиболее часто встречающихся источников.

Таблица 3  
Физическая характеристика рентгеновских и  $\gamma$ -излучений от наиболее распространенных источников

Излучение	Длина волны, в Å	Максимальная энергия, в Мэв	Плотность ионизации на 1 мк	Энергия поглощения в 1 мк ткани, кэв
Рентгеновское излучение, 100 кэв	0,12—0,18	0,1	100	3,5
Рентгеновское излучение, 200 кэв	0,06—0,09	0,2	80	2,8
Сверхжесткое рентгеновское излучение, 1 Мэв . . . . .	0,012—0,08	1,0	15	0,5
$\gamma$ -Лучи $\text{Co}^{60}$ , 1,2 Мэв . . . . .	0,011—0,017	1,17—1,33	8	0,42
$\gamma$ -Лучи бетатрона, 20 Мэв . . . .	0,0006—0,009	20	8	0,28



Фотоны, являясь незаряженными частицами, не отклоняются магнитными и электрическими полями атомов. Масса покоя у фотона равна нулю. Однако в силу закона эквивалентности массы и энергии, фотоны значительной энергии имеют электромагнитную массу, приближающуюся и даже превосходящую массу электрона. Приведем значения электромагнитной массы фотона различной энергии:

Энергия фотона, Мэв	Масса фотона по отношению к массе покоя электрона
0,1	0,24
1,0	2,4

Рентгеновские и  $\gamma$ -излучения благодаря малой длине волны и большой энергии фотона обладают глубокой проникающей способностью, измеряемой для водных растворов и живой ткани десятками сантиметров; чем меньше энергия фотонов (мягче излучение), тем больше они поглощаются в поверхностных слоях ткани. Более жесткие излучения, например  $\gamma$ -лучи  $\text{Co}^{60}$ , теряют до 60% всей энергии при прохождении 5—6 см ткани. В случае очень жестких излучений глубинная доза может превосходить поверхностную (см. рис. 4).

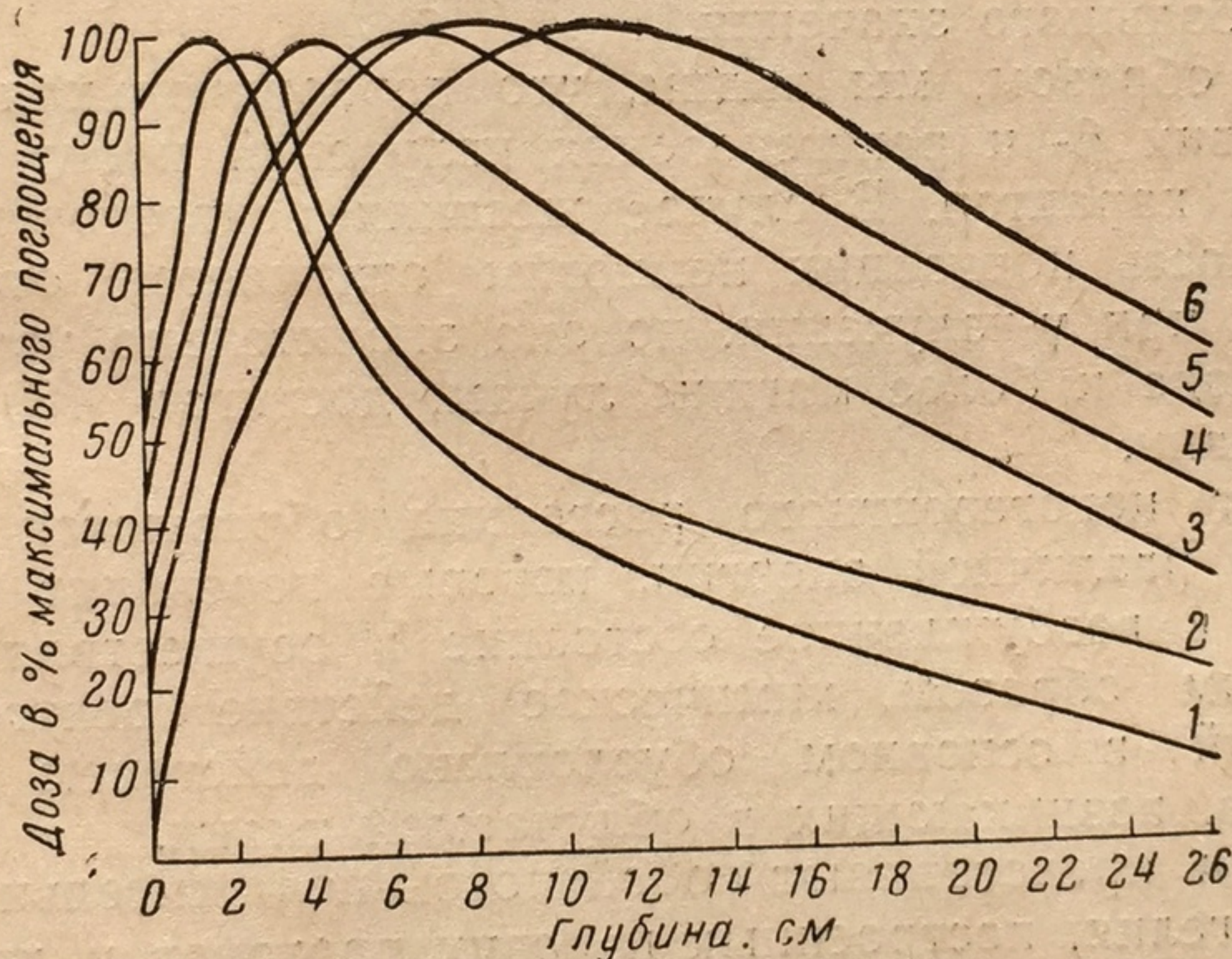


Рис. 4. Распределение тканевых доз по глубине облучаемых тканей в зависимости от энергии  $\gamma$ -лучей

1 — 2 Мэв; 2 — 20 Мэв; 3 — 30 Мэв; 4 — 40 Мэв;  
5 — 50 Мэв; 6 — 100 Мэв

Поглощение рентгеновых и  $\gamma$ -лучей веществом происходит за счет фотоэффекта, некогерентного рассеяния (эффекта Комптона) и образования пар.



Вероятность этих процессов в живых тканях (взаимодействие с легкими атомами) резко меняется в зависимости от энергии излучения.

Мягкие рентгеновские излучения, обладающие малой энергией, в основном дают фотоэлектрический эффект. При этом фотон, поглощаясь атомом, отдает небольшую часть своей энергии (от 30 до 50 Мэв) на преодоление сил, удерживающих электрон в атоме, остальная же энергия превращается в кинетическую энергию выбитого электрона. Эти вторичные электроны, подобно  $\beta$ -лучам, обладают большой кинетической энергией и ионизируют на своем пути молекулы вещества. В случае более жестких излучений, фотоны которых несут большую энергию, начинает проявляться явление «комптоновской отдачи» — некогерентного рассеяния. При этом фотон отдает выбитому электрону только часть своей энергии, продолжая свой путь уже с более низкой частотой и более длинной волной.

Наконец, в случае весьма богатых энергией фотонов (жесткие  $\gamma$ -лучи и ультражесткие рентгеновы лучи) наряду с комптоновским эффектом возможно исчезновение фотона с образованием пары из электрона и позитрона при столкновении фотона с ядром атома. Правда, этот вид взаимодействия наиболее отчетливо проявляется у тяжелых элементов и для ткани не имеет большого значения.

Таким образом, мы видим, что первоначальная ионизация при действии  $\beta$ - и рентгеновских излучений носит в основном вторичный характер. В случае жестких рентгеновских излучений плотность ионизации немногим отличается от плотности ионизации при  $\gamma$ -излучении, но она значительно увеличивается при переходе к более мягким лучам, достигая 460 ионов на микрон ткани.

За счет некогерентного рассеяния образуются вторичные электроны различной энергии, которые переводят атомы или молекулы в возбужденное состояние и осуществляют ионизацию. Таким образом, химическое действие рентгеновских и  $\gamma$ -излучений в основном обусловлено действием вторичных электронов, возникающих в облучаемой ткани.

$\alpha$ -лучи представляют собой поток положительно заряженных ядер гелия, построенных из двух протонов и двух нейтронов.

Масса  $\alpha$ -частиц равна 4,0389 ат. ед. массы, т. е. в четыре раза больше массы нейтрона или протона. Скорость  $\alpha$ -частиц составляет 0,047—0,083 скорости света.

Из данных табл. 4 видно, что  $\alpha$ -частицы, испускаемые многими радиоактивными веществами, обладают большой энергией.  $\alpha$ -частицы обладают исключительно большой ионизирующей способностью благодаря их большой энергии, относительно большой массе и двойному положительному заряду. Большая



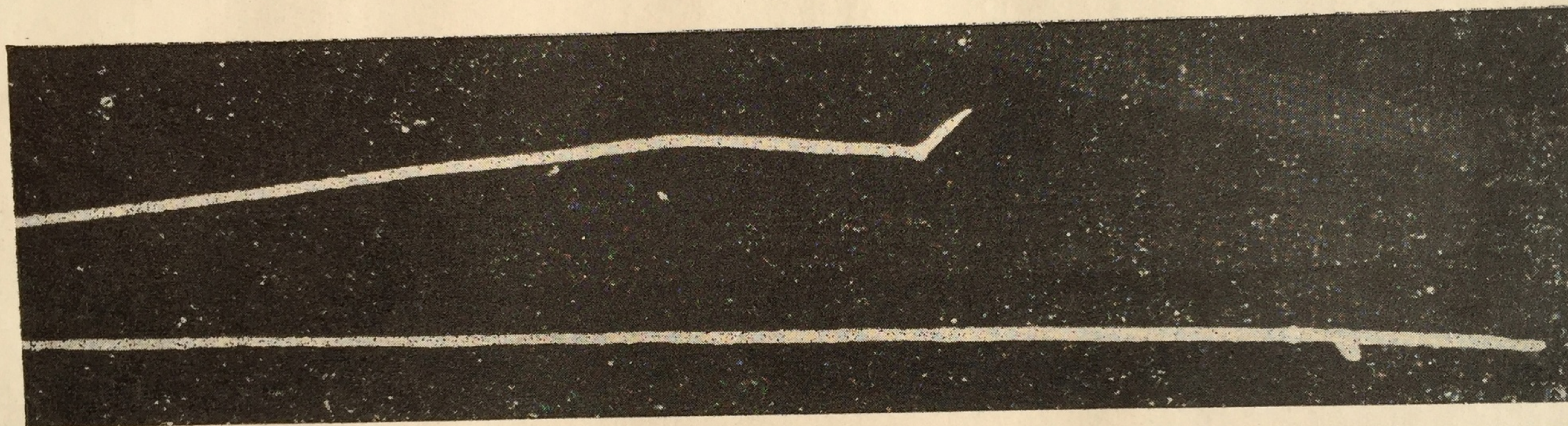


Рис. 5. Треки  $\alpha$ -частиц в камере Вильсона



Энергия

Радиоактивность

Радий 226  
Уран 238  
Уран 235 (а)  
Торий 232  
Полоний 209  
Полоний 210

плотность ионизирующей  
ткани, вызывающей повреждение  
треков, предположительно  
Выбитые электроны  
энергию и микроволны  
стицами, так как  
приходится считать  
цами.

Незначительная  
с тем, что она  
бег  $\alpha$ -частиц  
пробег ограничен

Нейтрон  
с массой 1,00866  
излучение во время  
Образующиеся  
ростями (поэтому  
сколько миллиметров  
название бета-излучения  
вом, нейтронное излучение  
ниже чем у  $\alpha$ -излучения  
Медленные нейтроны  
скорости термальных  
становится тепловыми  
могут взаимодействовать  
вательно, но не  
дать атомы

С другой стороны  
легко проникать  
воваться с ядрами  
бо захватываются  
Упругое рассеяние



Таблица 4

Энергия  $\alpha$ -частиц различных радиоактивных элементов [5]

Радиоактивный элемент	Период полураспада	Тип излучения	Энергия $\alpha$ -частиц, в Мэв
Радий 226 . . . . .	1622 года	$\alpha, \gamma$	4,79
Уран 238 . . . . .	$4,498 \cdot 10^9$ лет	$\alpha$	4,18
Уран 235 (актино-уран) . . . . .	$7,07 \cdot 10^8$ лет	$\alpha, \gamma, \beta$	4,39
Торий 232 . . . . .	$1,389 \cdot 10^{10}$ лет	$\alpha$	3,90
Полоний 209 . . . . .	200 лет	$\alpha$	4,86
Полоний 210 (радий F) . . . . .	138 дней	$\alpha, \gamma$	5,29

плотность ионизации, достигающая 3000—4500 ионов на микрон ткани, вызывает в камере Вильсона появление весьма плотных треков, представленных на рис. 5.

Выбитые  $\alpha$ -частицами электроны приобретают значительную энергию и могут, в свою очередь, явиться ионизирующими частицами, так называемое  $\delta$ -излучение. На долю  $\delta$ -излучения приходится около 20% общей ионизации, вызываемой  $\alpha$ -частицами.

Незначительная проникающая способность  $\alpha$ -частиц связана с тем, что они хорошо поглощаются веществом. В воздухе пробег  $\alpha$ -частицы достигает 8—10 см, а в воде и тканях организма пробег ограничивается сотыми долями миллиметра.

Нейтронное излучение — поток элементарных частиц с массой 1,0089 ат. ед. и зарядом, равным нулю. Нейтронное излучение возникает при ядерных реакциях, при распаде ядер. Образующиеся при этом нейтроны движутся с огромными скоростями (порядка  $1/10$  скорости света) и несут энергию в несколько миллионов электронвольт. Такие нейтроны получили название быстрых нейтронов. Взаимодействуя с веществом, нейтроны могут терять свою энергию. Нейтроны с энергией ниже чем 10 кэв называются медленными нейтронами. Медленные нейтроны, скорость движения которых падает до скорости теплового движения молекул (2200 м/сек), а энергия становится равной нескольким сотым электронвольта, называются тепловыми нейтронами. Нейтроны, не имея заряда, не могут взаимодействовать с орбитальными электронами и, следовательно, не могут непосредственно ионизировать или возбуждать атомы или молекулы.

С другой стороны, отсутствие заряда позволяет нейтронам легко проникать в недра атома и непосредственно взаимодействовать с ядром. Здесь возможно либо упругое столкновение, либо захват нейтрона ядром с последующей ядерной реакцией. Упругое столкновение с ядрами, имеющими значительно



большую массу, чем масса нейтрона, мало изменяет энергию нейтрона. Такое столкновение приводит лишь к рассеянию нейтронов.

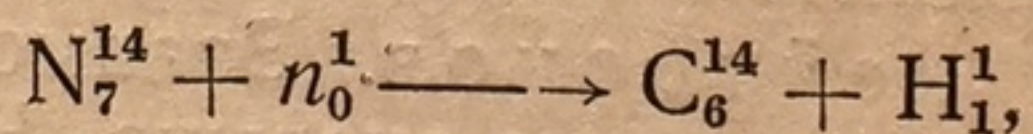
Иная картина наблюдается при столкновении с ядрами водорода — протонами, — почти равными по массе нейтронам. При таком столкновении протон может получить большой запас энергии, т. е. превратиться в ионизирующую частицу. Такие вторичные протоны отдачи и обуславливают ионизацию вещества при его облучении нейтронами.

Эти протоны отдачи, обладая значительной кинетической энергией и массой, образуют на своем пути очень плотный трек из ионов.

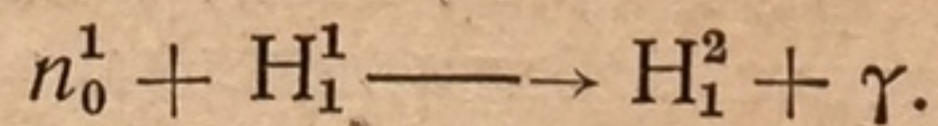
Плотность ионизации от нейтронных облучений различной энергии может варьировать от 290 до 1100 ионов на микрон ткани. Нейтроны, сталкиваясь с ядрами водорода, теряют значительное количество энергии. Происходит замедление нейтронов. Для нейтрона с энергией в 1 Мэв достаточно 18 таких столкновений, чтобы потерять почти всю энергию и превратиться в тепловой нейтрон.

С увеличением ядра замедление происходит медленнее. В углероде (вес ядра 6) нейтрон при одном столкновении теряет не более 15% своей энергии, а для полного замедления нейтрона с энергией в 1 Мэв понадобится уже более 100 столкновений. Кислород, фосфор, сера и другие атомы еще менее эффективны.

Второй вид взаимодействия — это поглощение ядром и возникновение ядерной реакции. При этом часто образуются радиоактивные изотопы (наведенная радиоактивность). При нейтронном облучении живых тканей наиболее возможны такие реакции с ядром азота. Захват нейтрона ведет к испусканию протона и превращению азота в радиоактивный углерод:



при этом чем меньше энергия нейтрона, тем более вероятна реакция захвата. Медленные нейтроны здесь наиболее эффективны. В тканях часто имеет место захват нейтрона ядром водорода с образованием дейтрона:



Нейтроны обладают большой проникающей способностью. Даже тепловой нейтрон за  $10^{-4}$  сек. своего существования проходит по ломаной линии около 22 см.

Атомные лучи. В заключение следует упомянуть и об атомных лучах, представляющих собой продукты деления урана и обладающих достаточно большими массой и зарядом.

Плотность  
раз и дост  
Из все  
низирующе  
вом, в кон  
к их иони  
в зависимо  
цы. Плотн  
частицами,

Плотность

Излучение

Бета- и гамма-из  
лучения большой  
энергии

Гамма-излучение

Рентгеновское  
излучение

Нейтронное  
излучение

Альфа-излучение

Ядерное излучение

Длитель  
лика (10-6  
отдать свои  
вернуться в  
цию, т. е. и  
активации.  
счет реком



Плотность ионизации в этом случае может возрасти во много раз и достигнуть 130 000 ионов на микрон ткани.

Из всего вышесказанного следует, что различные виды ионизирующей радиации, по-разному взаимодействуя с веществом, в конечном счете возбуждают атомы и молекулы, приводят к их ионизации. Плотность образуемых ионов будет различна в зависимости от энергии, массы и заряда ионизирующей частицы. Плотность ионов, образуемая различными ионизирующими частицами, представлена в табл. 5.

Таблица 5

Плотность ионов, образуемая различными ионизирующими частицами

Излучение	Источник	Линейная плотность ионов (на 1 мк ткани)	Ионизирующие частицы
Бета- и гамма-излучения большой энергии	Бетатрон 20—30 млн. в Природные и искусственные радиоэлементы	8,5	— Электроны
Гамма-излучение	Радий, экранированный 0,5 мм платины (как при радиотерапии)	11	
Рентгеновское излучение	Рентгеновские трубки при 1000 кэв	15	
	200 кэв	80	
	30—180 кэв	100	
	8 кэв	145	
	12 Мэв	290	— Протоны
Нейтронное излучение	3 кэв	300	
	8 Мэв	380	
	1,5 кэв	460	
Альфа-излучение	Линейный ускоритель литий-дейтроны 900 кэв	840	Ядра гелия
	дейтерий-дейтроны 400 кэв	1100	
	Радиоактивный распад радона	3700	
	Радиоактивный распад полония	4500	
Ядерное излучение	Распад бора или лития под влиянием медленных нейтронов	9000	Атомные частицы
	Деление урана	130000	

Длительность жизни возбужденных молекул и ионов невелика ( $10^{-6}$  —  $10^{-10}$  сек.). Возбужденные молекулы могут либо отдать свою энергию (в виде фотона или тепловой энергии) и вернуться в первоначальное состояние, либо вступить в реакцию, т. е. использовать свою энергию на преодоление барьера активации. Так же и ионы могут дать исходные молекулы за счет рекомбинаций или же вступить во вторичные реакции за



счет присущей им энергии. Наступающие вторичные реакции ионов и возбужденных молекул и обуславливают основные превращения веществ в живой ткани под влиянием ионизирующей радиации. Эти вторичные реакции идут различно у различных веществ. Поэтому рассмотрение вторичных реакций целесообразно провести по отдельным веществам или классам веществ, характерных для тканей живых организмов.

Так как ионизирующее излучение поглощается непосредственно в атомах, то степень поглощения почти не зависит от строения молекул, а всецело определяется номером атома в периодической системе. Легкие атомы (H, O, C, N), из которых построена основная масса веществ живых организмов, обладают близкими коэффициентами поглощения.

Для сложных веществ или систем, состоящих из этих веществ, поглощение ионизирующей радиации будет определяться так называемым эффективным атомным номером, представляющим собой сумму атомных номеров атомов, входящих в систему ( $Z$ ), с коэффициентами их относительного содержания ( $P$ ):

$$Z_{\text{эфф.}} = P_1 Z_1 + P_2 Z_2 + P_3 Z_3 + \dots + P_n Z_n.$$

Эффективные атомные номера для различных мягких тканей живого организма очень близки друг к другу и лежат в пределах 5,9—7,4. Следовательно, при облучении организма большинство веществ, составляющих его мягкие ткани, будут поглощать излучение в равной мере. Несколько интенсивнее будет поглощать костная ткань, для которой  $Z_{\text{эфф.}} = 13,8$  [6]. Отсутствие избирательности в поглощении приведет к тому, что наибольшее количество лучистой энергии будет поглощено веществом, присутствующим в наибольшей концентрации. Таким веществом в живых тканях является вода. Вот почему с воздействия ионизирующей радиации на воду целесообразно начать рассмотрение действия ионизирующих излучений на вещества живого организма.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. К. К. Аглинцев. Дозиметрия ионизирующих излучений. М—Л., 1950.
2. П. Моррисон. В сб.: Радиобиология. М., ИЛ, 1955.
3. Радиационная медицина. Под ред. А. П. Бурназяна и А. В. Лебединского. М., 1960.
4. F. Hutchinson, E. Pollard. В кн.: «Mechanisms in Radiobiology», ed. by M. Errera, A. Forssberg, VI. London, 1961.
5. Г. Сиборг и И. Перлман. Таблица изотопов. М., ИЛ. 1951.
6. А. В. Бибергаль, У. Я. Маргулис, Е. П. Воробьев. Защита от рентгеновых и  $\gamma$ -лучей. Медгиз, 1955.



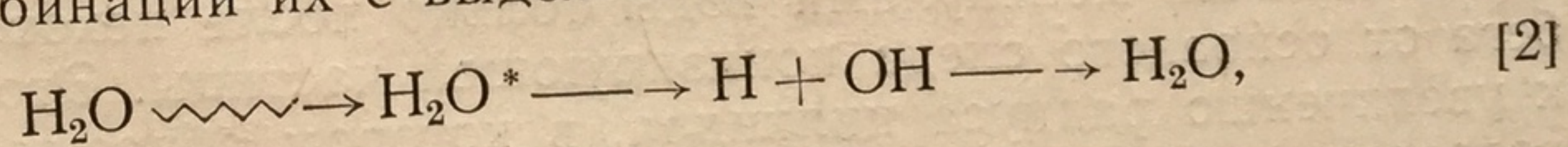
## ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ВОДУ

**Д**ля всех живых организмов, находящихся в состоянии активной жизнедеятельности, характерно высокое содержание воды. Количество ее уменьшается только при переходе организма в состояние покоя (семена, споры). Высокое содержание воды (до 84%) характерно для всех активно метаболизирующих тканей. Невелико оно только в тканях, выполняющих опорные функции. В активно метаболизирующих тканях именно вода является средой, в которой распределены все остальные вещества живого организма. Ионизирующие частицы, попадая в организм, прежде всего войдут во взаимодействие с молекулами воды. Характер воздействия проникающей радиации на воду представляет исключительный интерес для выяснения общей картины биохимических изменений, происходящих в организме под влиянием ионизирующей радиации.

Исключительно важное значение будет иметь воздействие ионизирующих излучений на водные растворы органических веществ [1].

В момент прохождения первичной ионизирующей частицы через воду (в первые  $10^{-18}$  —  $10^{-16}$  сек.) вдоль ее трека будут образовываться возбужденные и ионизированные молекулы воды, как это схематически представлено на рис. 6 [2].

Возбуждение молекул воды, по-видимому, не имеет существенных последствий, так как образующиеся при этом радикалы пространственно не разобщены, что должно вести к немедленной рекомбинации их с выделением тепла:



в результате чего система не претерпевает каких-либо изменений [2]. Иначе обстоит дело при ионизации. В первичном акте взаимодействия ионизирующей частицы с молекулой воды один



из электронов получает большой запас энергии, благодаря чему он выбрасывается из молекулы на расстояние, превышающее в сотни раз диаметр молекулы [3].

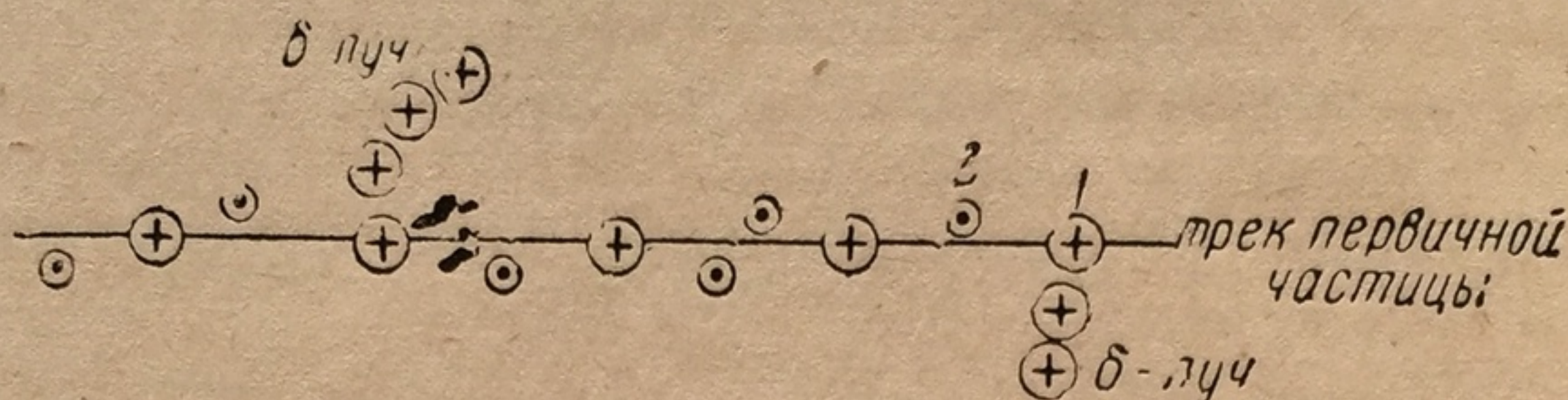
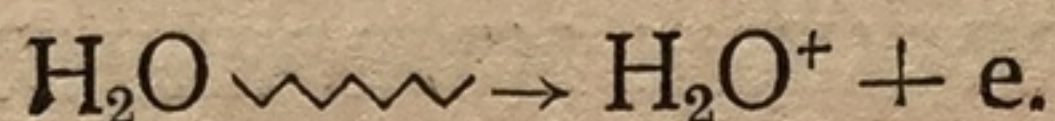
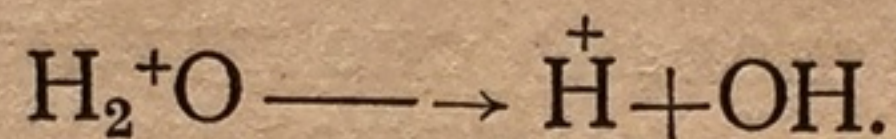


Рис. 6. Диаграмма распределения возбужденных и ионизированных молекул вдоль трека первичной частицы,  $10^{-18}$ — $10^{-16}$  сек.

1 — положительный ион воды; 2 — возбужденная молекула

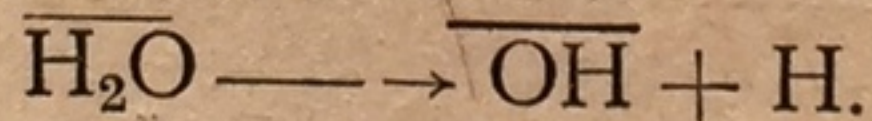
Образовавшийся в результате ионизации положительный ион воды диссоциирует с образованием иона водорода и радикала гидроксила:



Выбитые электроны, теряя свою энергию в процессе ионизации, могут соединяться с нейтральными молекулами воды, образуя отрицательно заряженный ион воды:



который, в свою очередь, диссоциируя, образует ион гидроксила и свободный атом водорода: [4, 5, 6].

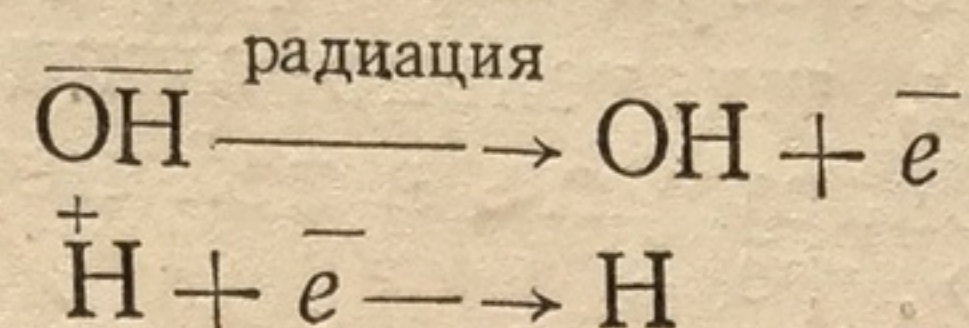


Радикалы OH возникают непосредственно вдоль следа ионизирующей частицы. При этом в случае частиц с большой массой ( $\alpha$ -частиц, нейтронов, дейтронов) получаются пучки значительной плотности. Атомы водорода возникают на некотором расстоянии.

Вторичный электрон, обладая значительной энергией, может быть захвачен молекулами воды только после некоторого пробега от основного следа ионизирующей частицы. Это приводит к увеличению радиуса цилиндра, в котором образуются атомы водорода, и к значительному уменьшению плотности атомов водорода по отношению к плотности гидроксильных радикалов (рис. 7). Процессы образования свободных радикалов H и OH идут в пределах  $10^{-10}$  сек.

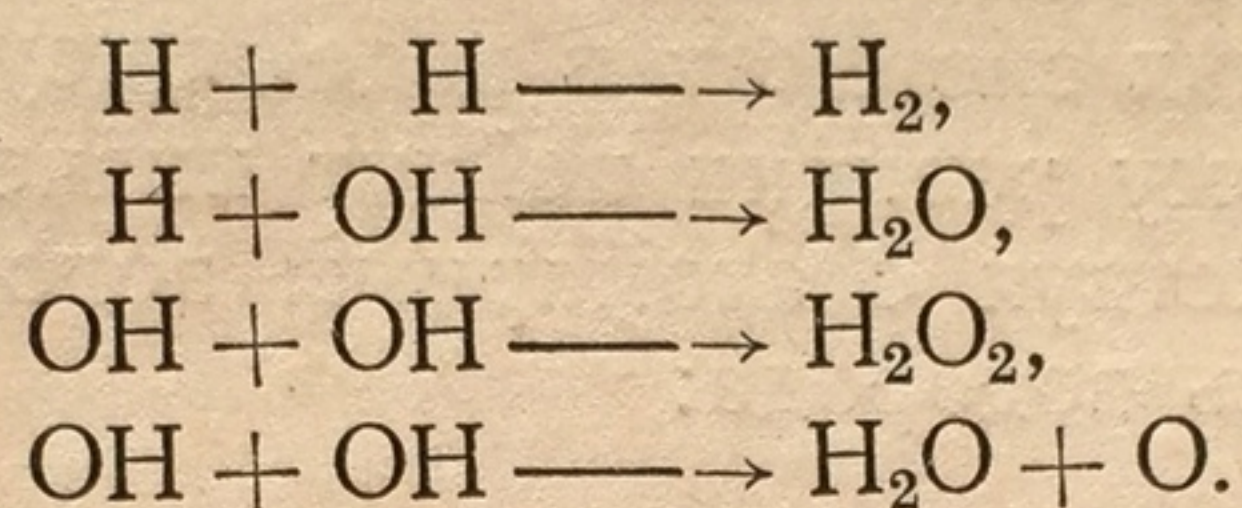


Образование радикалов гидроксила и свободных атомов водорода возможно и при взаимодействии радиации с ионами водорода и гидроксила, всегда присутствующими в воде:



Для чистой воды, в которой концентрация ионов по сравнению с концентрацией нейтральных молекул весьма мала, эта возможность очень невелика; но ее вероятность несколько возрастает в кислой или щелочной среде живых тканей.

Образовавшиеся свободные радикалы  $\text{OH}$  и  $\text{H}$ , обладая большой активностью в промежуток времени от  $10^{-12}$  до  $10^{-7}$  сек., могут принять участие в следующих экзотермических реакциях [7].



В чистой воде наиболее легко будут идти первая и вторая реакции. Взаимодействие двух гидроксильных радикалов, в силу дипольных моментов гидроксильных радикалов, потребует энергии актива-

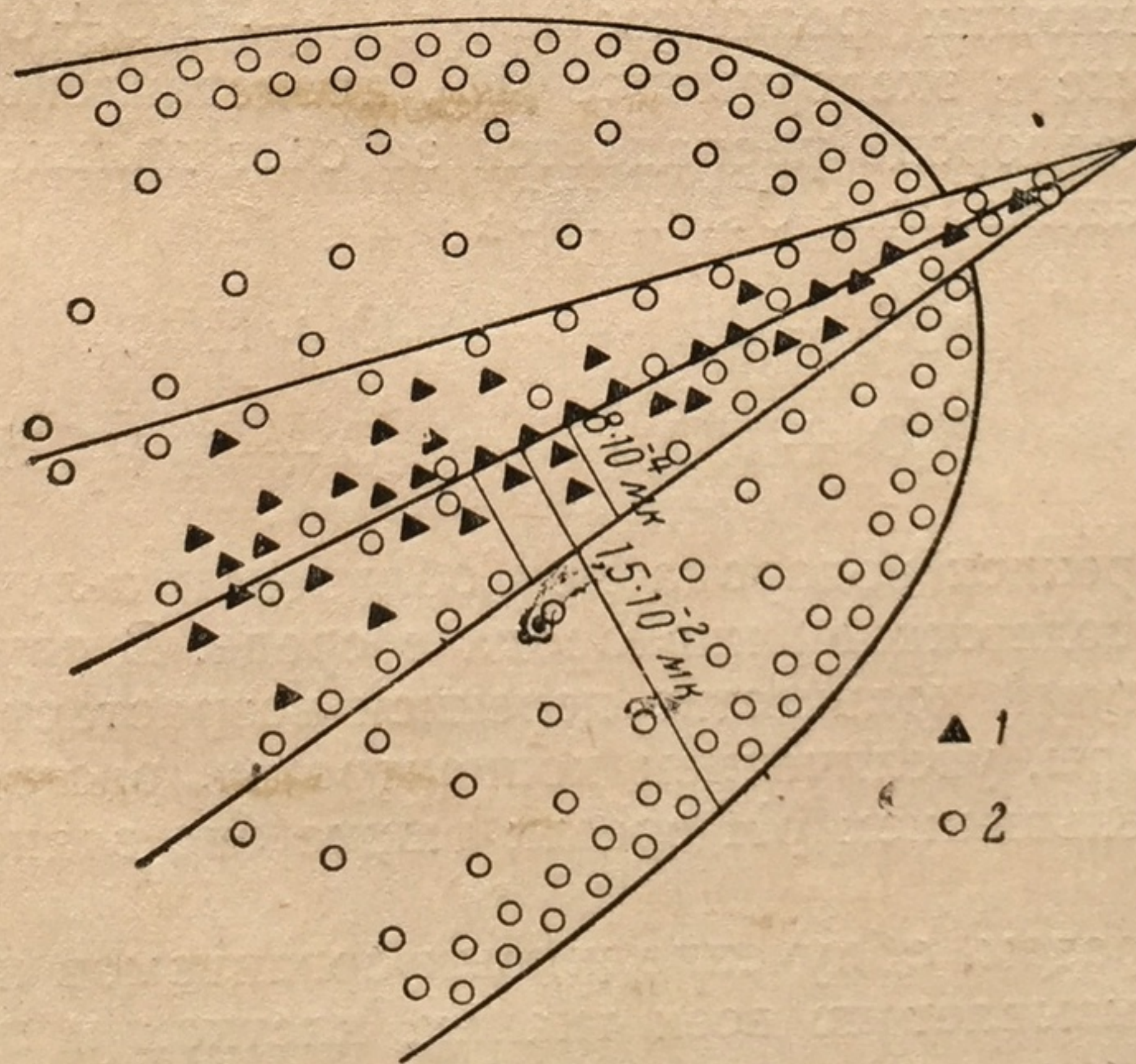


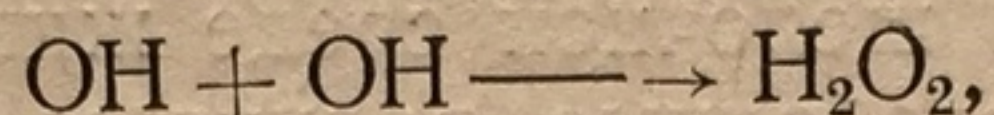
Рис. 7. Схема образования радикалов  $\text{OH}$  и атомов  $\text{H}$  на пути ионизирующей частицы  
1 — радикалы гидроксила; 2 — атомы водорода



ции около 5 ккал, что делает эту реакцию, так же как и последнюю, обладающую еще большей энергией активации, маловероятной.

Действительно, Боне-Мори и Лефор [8] при облучении рентгеновыми лучами воды, тщательно очищенной от посторонних примесей, не смогли обнаружить в ней перекиси водорода даже при дозах облучения  $2 \cdot 10^6$  р.

Только при облучении  $\alpha$ -лучами, благодаря исключительно большой плотности ионизации, вдоль пути  $\alpha$ -частицы возникает очень большая концентрация радикалов гидроксила, в результате чего повышается вероятность реакции:



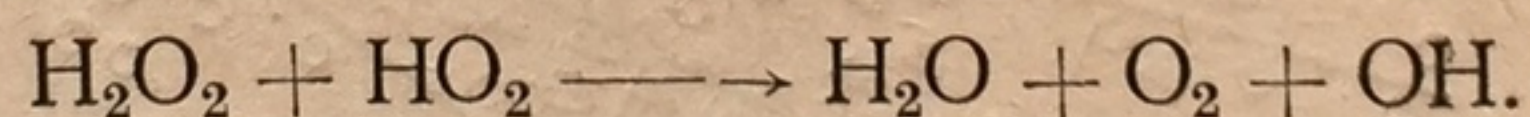
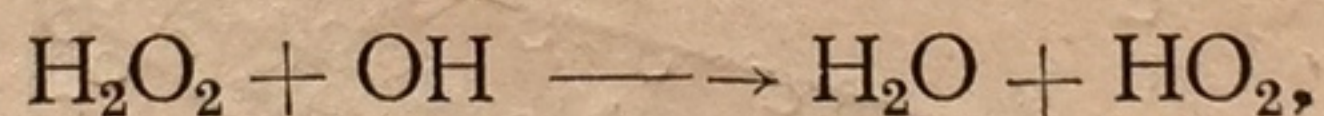
что и приводит к неизменному появлению перекиси водорода при  $\alpha$ -радиолизе воды.

В биологических системах в воде присутствует растворенный кислород и поэтому реакции пойдут иначе. Молекулярный кислород, взаимодействуя с атомарным водородом, дает гидропероксид и перекись водорода:



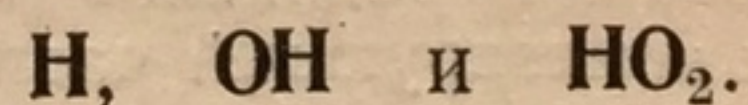
Количество перекиси водорода будет увеличиваться и в присутствии растворенных веществ [10], реагирующих с H и тем самым угнетающих реакцию:  $\text{H} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{OH}$ . Результаты, полученные в эксперименте [10], представлены на рис. 8.

Перекись водорода распадается за счет дальнейших взаимодействий с радикалами OH и HO<sub>2</sub>



Выход перекиси водорода при облучении  $\alpha$ -лучами не зависит от pH и содержания кислорода в среде. В случае рентгеновых,  $\gamma$ - и  $\beta$ -лучей количество перекиси возрастает с повышением температуры, увеличением концентрации растворенного кислорода и уменьшением pH среды; также оно зависит и от дозы облучения.

Таким образом, облучение живых организмов ионизирующей радиацией вызывает во всех тканях, клетках и жидкостях организма возникновение следующих активных радикалов:



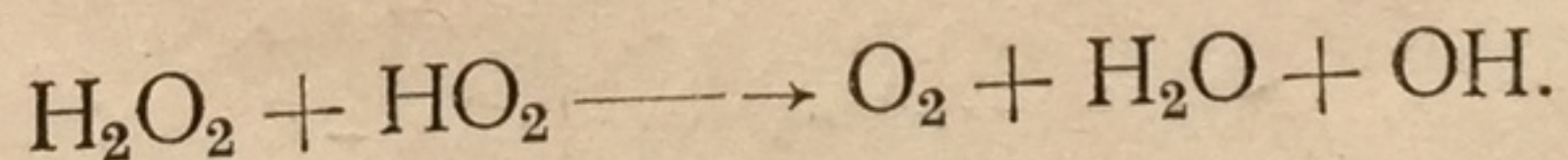
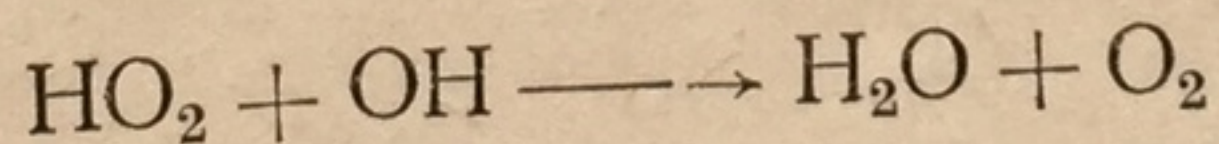
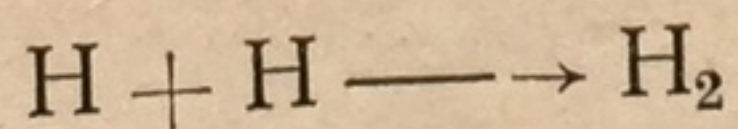


Появление этих радикалов будет иметь место и при облучении водных растворов.

В присутствии кислорода гидропероксид —  $\text{H}_2\text{O}_2$  образуется за счет атомарного водорода, следовательно, радикалы-окислители —  $\text{OH}$  и  $\text{HO}_2$  будут значительно преобладать над радикалом-восстановителем  $\text{H}$ . Поэтому при облучении ионизирующими излучениями водной среды создаются условия, благоприятные для окисления растворенных в воде веществ. Свободные радикалы  $\text{OH}$  и  $\text{HO}_2$  энергетически способны вызвать реакцию окисления органических веществ по любым связям, в том числе и таким, которые являются устойчивыми при обычных окислительно-восстановительных превращениях.

Кроме того, при ионизации воды наблюдается кратковременное изменение рН в микро-районах облучаемой ткани. Образование ионов водорода  $\text{H}^+$  вдоль оси трека ионизирующей частицы и ионов гидроксила по периферии трека может быть настолько значительным, что оно способно осуществить перезарядку поверхностей микромицелл и тем самым изменить устойчивость коллоидальной системы, ее электрофоретическую подвижность.

При ионизации воды возможно также образование газообразного водорода и кислорода по реакциям:



Однако вероятность этих реакций невелика, и, как показывает эксперимент, выделение газа ничтожно мало. Трудно допустить, чтобы оно играло какую-нибудь существенную роль в биологическом действии радиации.

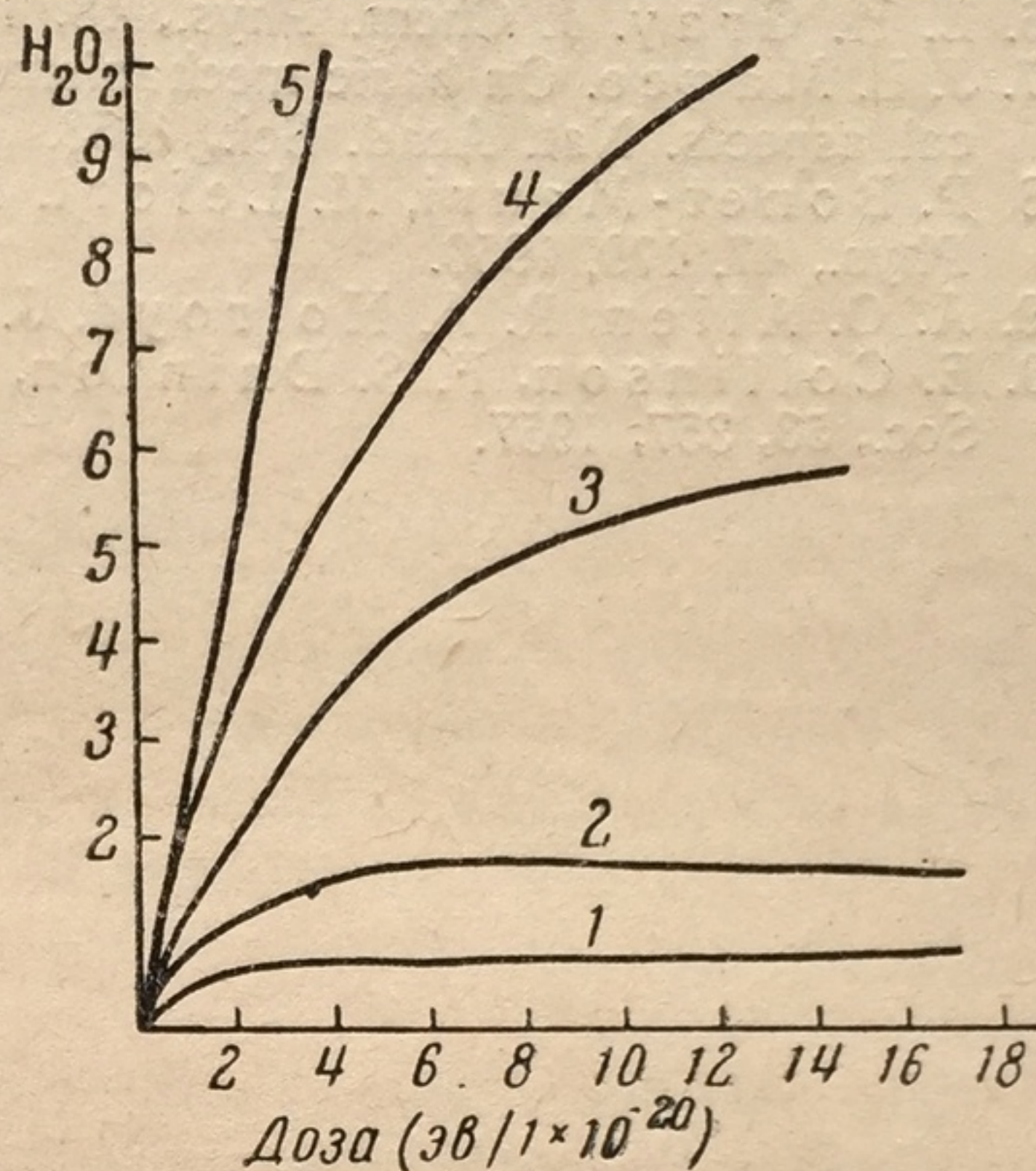


Рис. 8. Образование  $\text{H}_2\text{O}_2$  в чистой воде в присутствии растворенного вещества (акриламида) и в присутствии кислорода

1 — чистая вода; 2 — вода +  $5 \cdot 10^{-6}$  М акрил-амид; 3 — вода +  $5 \cdot 10^{-5}$  М акрил-амид; 4 — вода +  $1 \cdot 10^{-3}$  М акрил-амид; 5 — вода +  $\text{O}_2$



## ЛИТЕРАТУРА

1. F. S. Dainton. Radiation Res., Suppl., 1, 1, 1959.
2. E. Collinson, A. J. Swallow. Chem. Revs., 55, 471, 1956.
3. H. Fröhlich, R. L. Platzman. Phys. Rev., 92, 1152, 1953.
4. J. Jortner, G. Stein. Nature, 175, 893, 1955.
5. D. E. Lea. Actions of radiations on living cells. London, 1955.
6. L. H. Gray. J. Chem. Phys., 48, 172, 1951.
7. J. L. Magee. On basic mechanisms in radiobiology. II. Physical and chemical aspects. Nat. Acad. Sci., 1953.
8. P. Bonet-Mauri, M. Lefort. Nature, 162, 381; 166, 981, 1958; J. Chim. Phys., 47, 179, 1950.
9. A. O. Allen, R. A. Holroyd. J. Amer. Chem. Soc., 77, 5852, 1955.
10. E. Collinson, F. S. Dainton, G. S. McNaughton. Trans. Faraday Soc., 53, 357, 1957.

ОБРАЗ  
ИОНИЗ

П ри  
луч  
так

сталкива  
диации. Е  
живой си  
теме возн  
ров вне ж

Основ  
ятно допу  
щих к обр

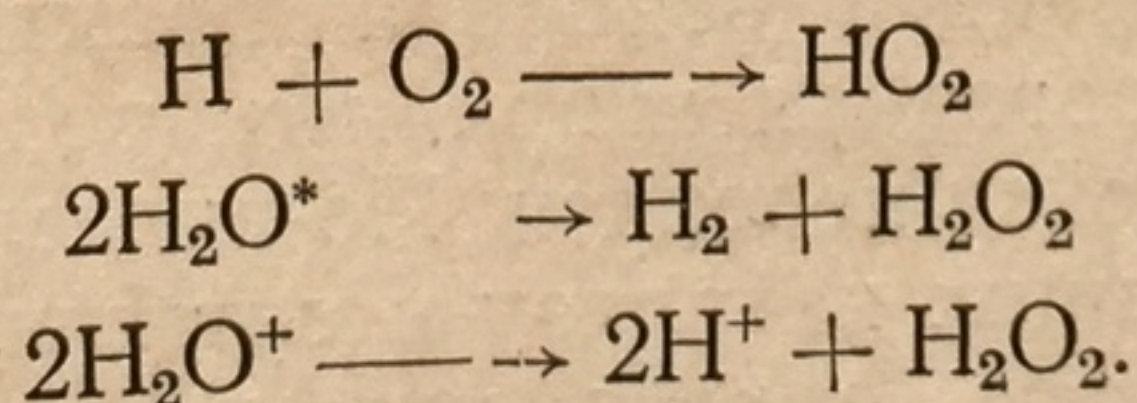
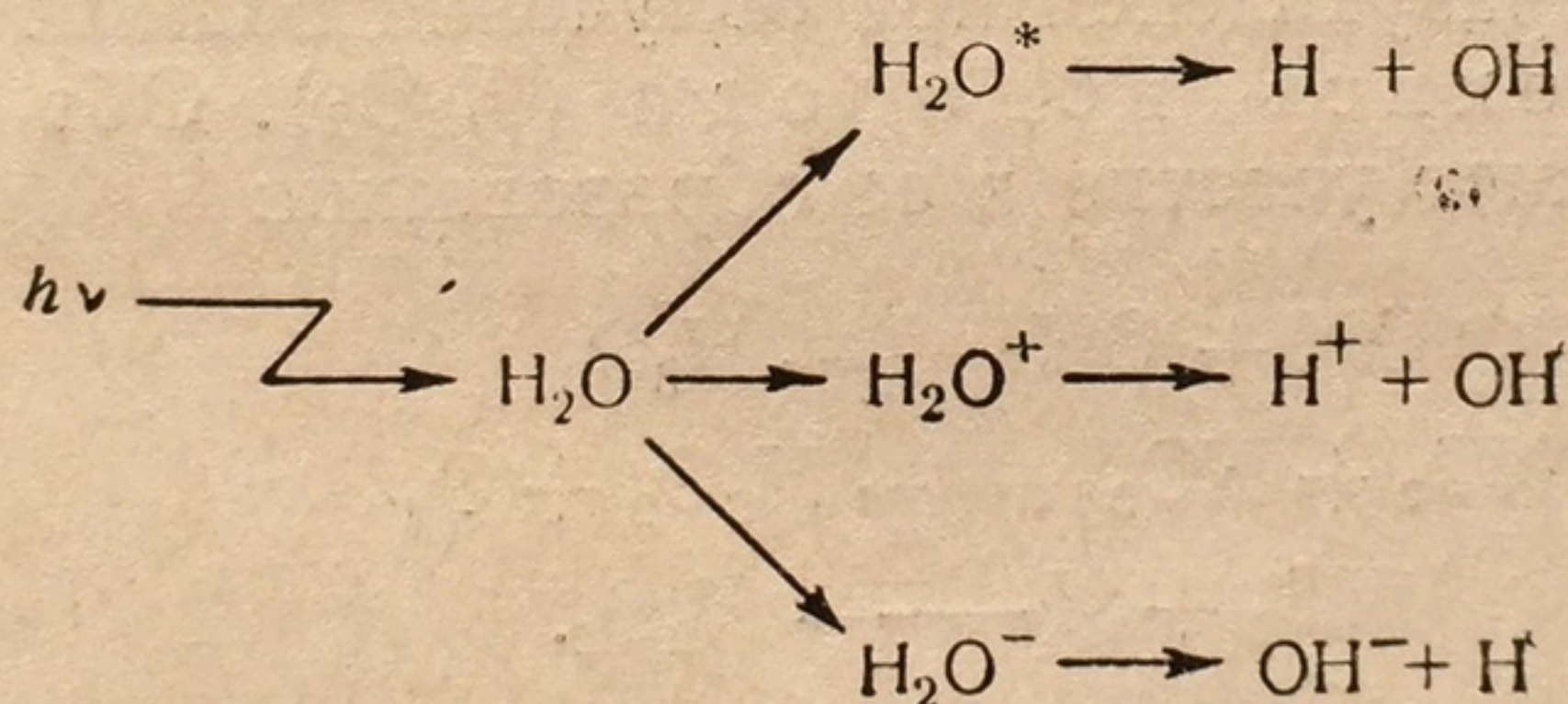
Все эти  
гии ионизи  
10-18—10-6  
ществуют в  
жизни своб  
отдельные  
калов, при



## ОБРАЗОВАНИЕ ПЕРЕКИСЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

При рассмотрении начальных процессов, возникающих в облученной клетке как непосредственно в момент облучения, так и в последующие интервалы времени, мы неизбежно сталкиваемся с ролью перекисей в поражающем действии радиации. Большое количество воды и присутствие кислорода в живой системе дают возможность предполагать, что в этой системе возникнут процессы, идущие при облучении водных растворов вне живого организма.

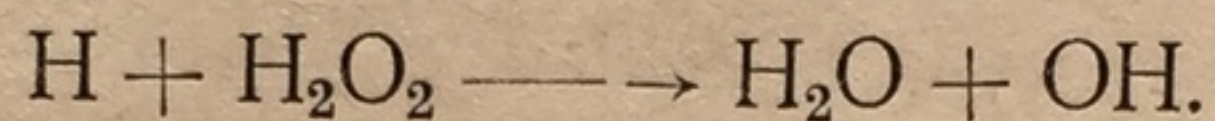
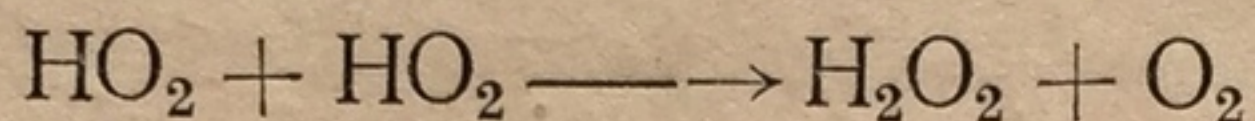
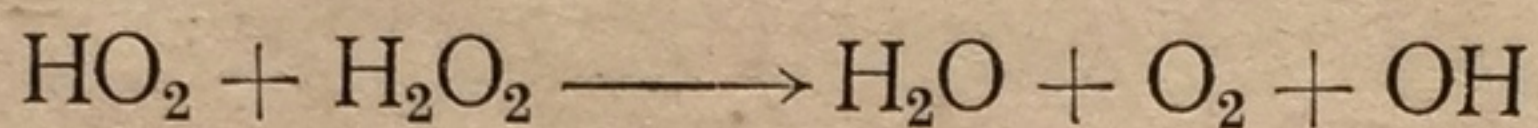
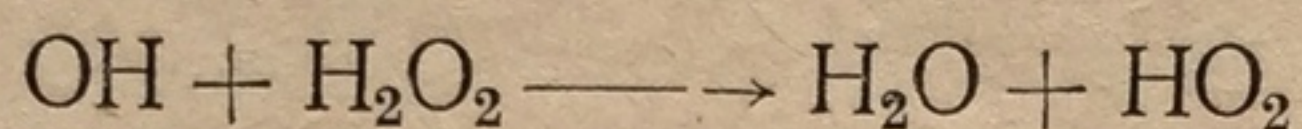
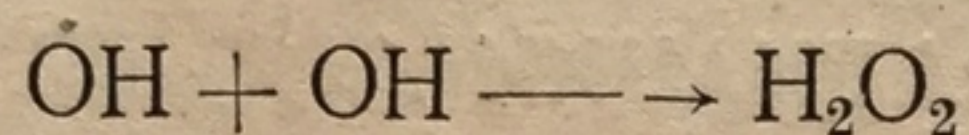
Основываясь на исследованиях Вейса [1—4], наиболее вероятно допустить возможность ряда первичных реакций, приводящих к образованию элементарных перекисей:



Все эти процессы протекают почти мгновенно. Передача энергии ионизирующей частицы молекулам воды заканчивается в  $10^{-18}$ — $10^{-6}$  сек. Образовавшиеся ионизированные молекулы существуют не более  $10^{-11}$ — $10^{-10}$  сек. [5]. Относительно времени жизни свободных радикалов в водных растворах имеются только отдельные исследования, определяющие суммарную жизнь радикалов, приводящих к образованию более стабильного продукта.



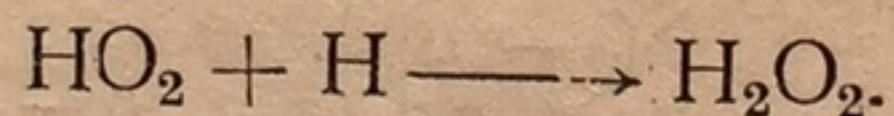
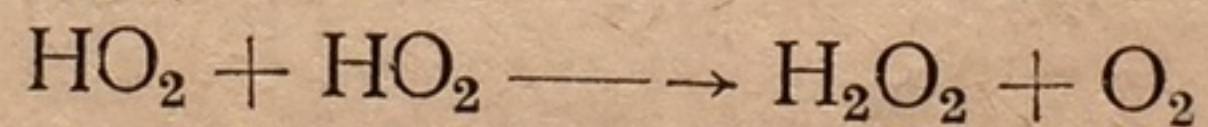
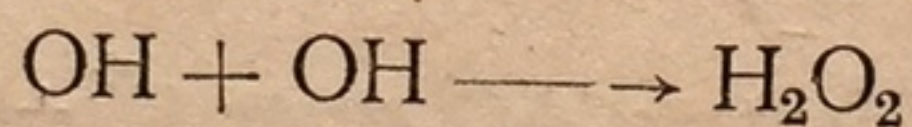
По данным Чармли [6], изучавшего выход перекиси водорода при импульсном облучении воды быстрыми электронами, время существования промежуточных радикалов лежало в пределах  $10^{-2}$ — $10^{-3}$  сек. Речь идет о следующей цепи реакций:



По данным Аллен [7], цепь аналогичных процессов может существовать до 0,25 сек. По расчетам Долина [5], в растворах и биологических средах время жизни радикалов исчисляется величинами порядка  $10^{-2}$ — $10^{-3}$  сек.

За это время они смогут переместиться на несколько тысяч молекулярных радиусов, осуществляя взаимодействия с молекулами растворенных веществ.

Два радикала —  $\text{O}\dot{\text{H}}$  и  $\text{HO}_2$  играют большую роль в последующих реакциях окисления растворенных веществ, причем последний ( $\text{HO}_2$ ), по-видимому, более устойчив и в то же время несколько менее активен, чем  $\text{O}\dot{\text{H}}$  [8, 9, 10]. Простейшей стабильной перекисью, образующейся при облучении водных растворов, может быть перекись водорода ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Оба начальных радикала принимают участие в ее образовании:



Однако выход перекиси водорода практически оказывается очень небольшим, благодаря вторичным реакциям, приводящим к распаду образующейся перекиси. По-видимому, в живых системах, обычно содержащих каталазу и сравнительно высокие концентрации электролитов, образование перекиси водорода будет еще меньшим, что делает мало вероятным ее участие в дальнейших реакциях окисления. Попытки имитировать лучевое поражение созданием соответствующих концентраций перекиси водорода не имели успеха.

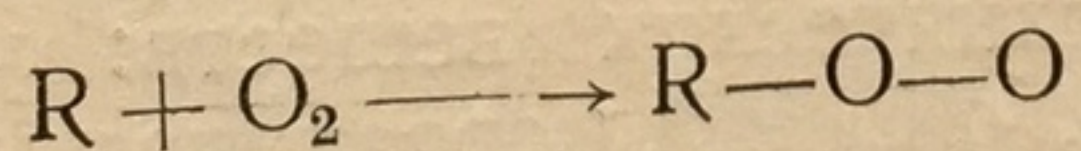
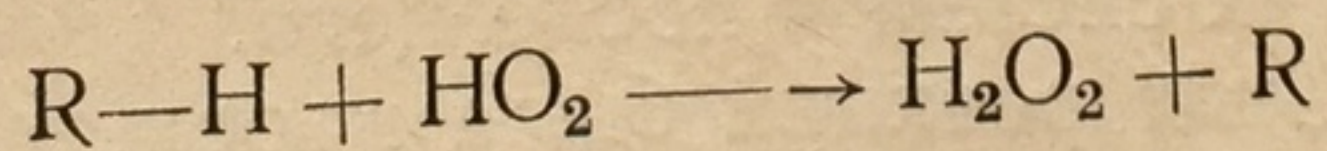
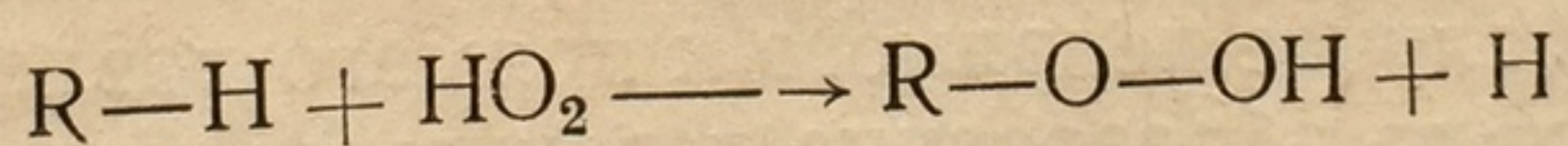
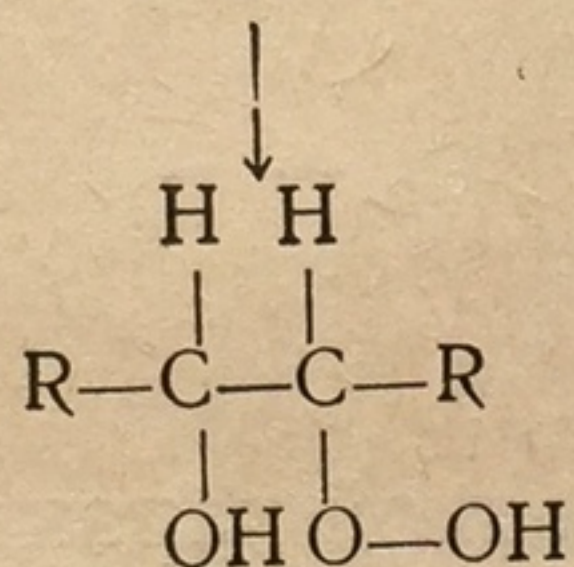
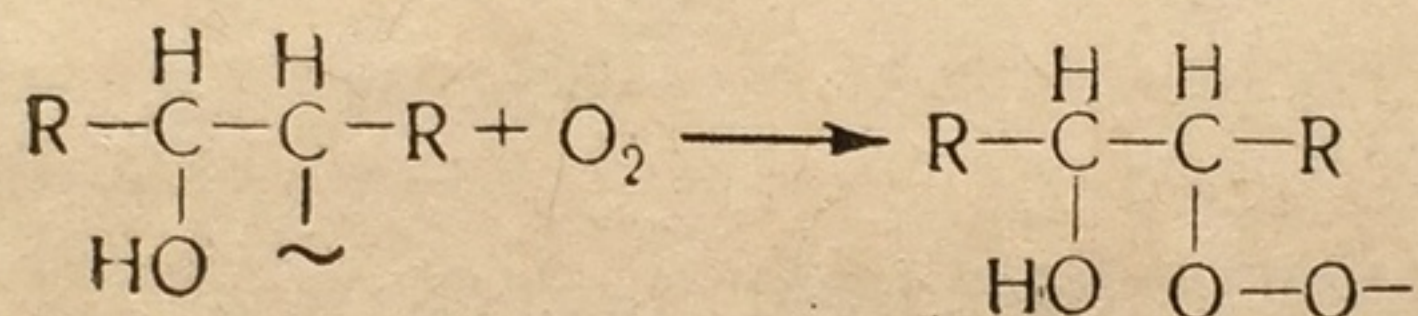
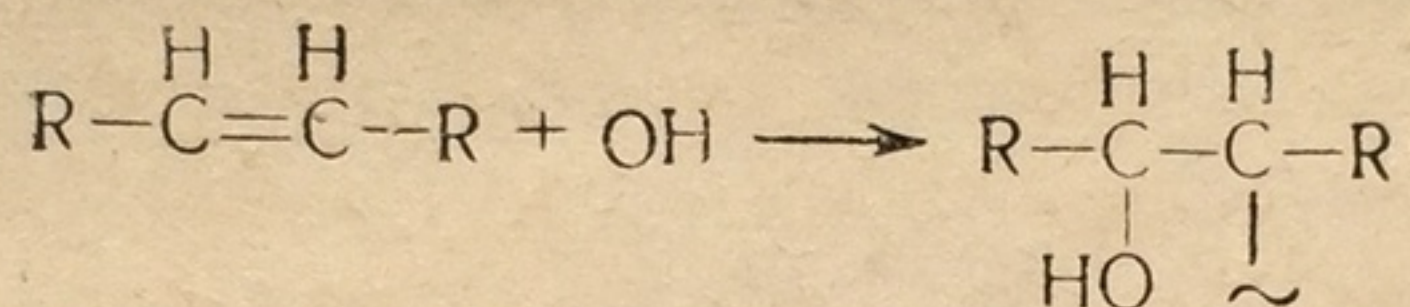
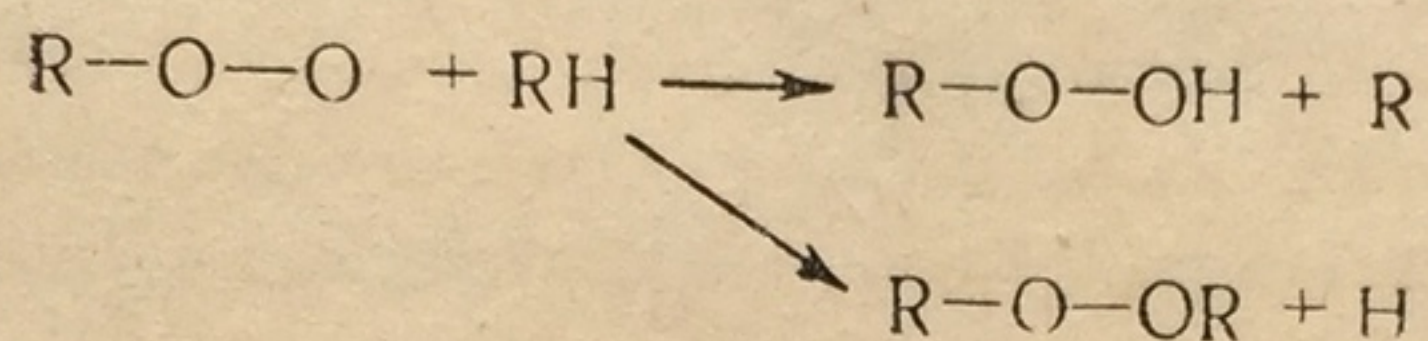
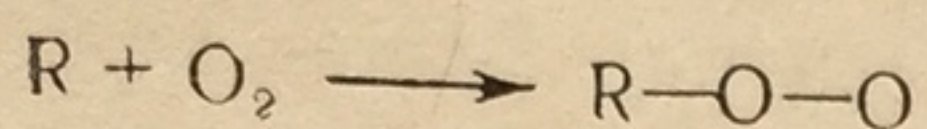
Большой интерес представляет возможность образования органических перекисей в облучаемых системах. Органические перекиси могут возникнуть как за счет первоначально образовавшихся свободных радикалов  $\text{O}\dot{\text{H}}$  и  $\text{HO}_2$ , так и путем



непосредственного взаимодействия радикалов органических веществ с кислородом. В разбавленных водных растворах будет преобладать первый механизм образования перекисей.

В концентрированных растворах и в неводных системах существенная роль будет принадлежать второму пути.

При воздействии на растворенное органическое вещество (RH) радикалов воды, в присутствии кислорода, возникают следующие реакции:



и т. д.

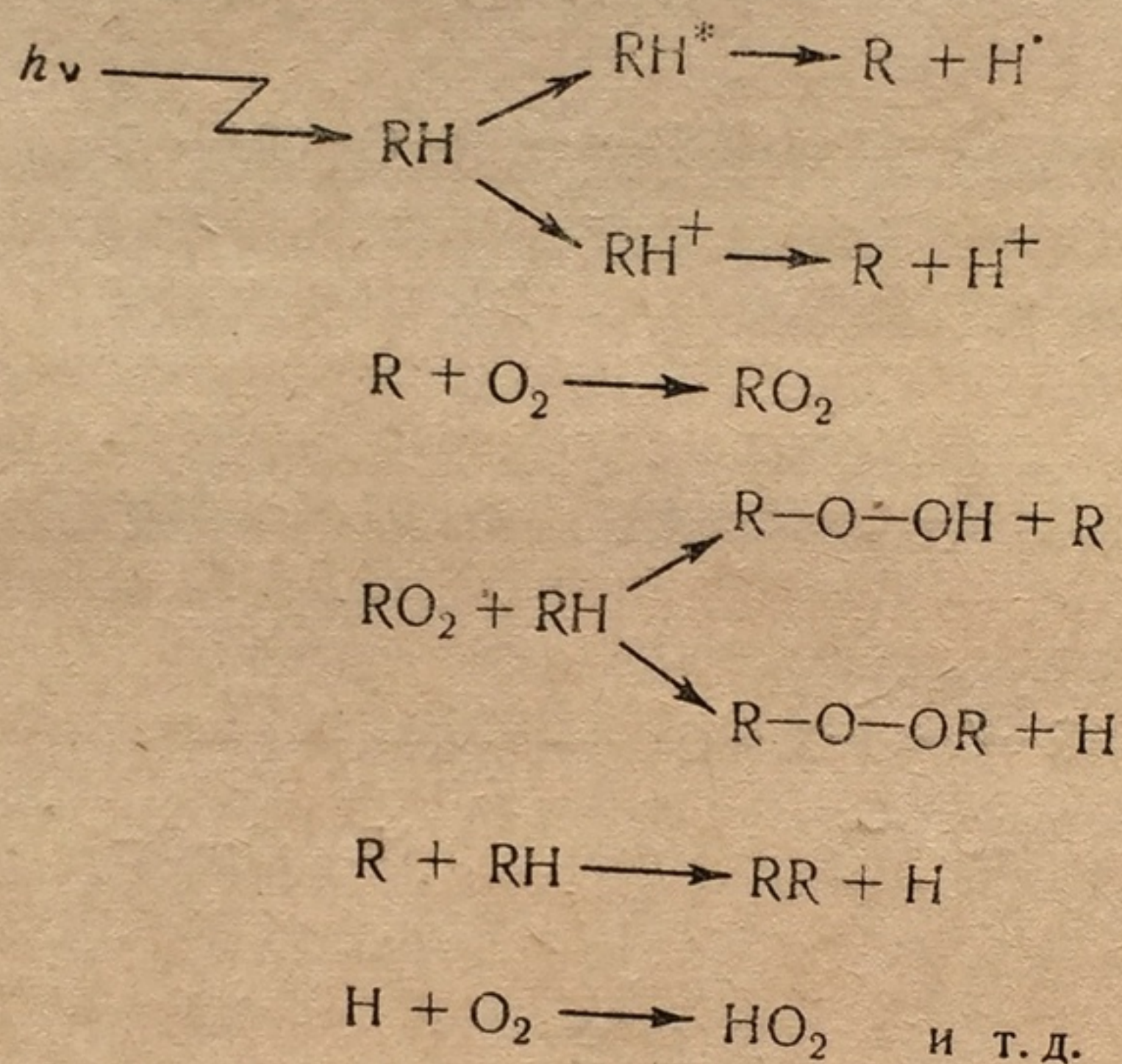
Эти реакции представляют большой интерес, так как ведут к образованию довольно активных органических перекисей и гидроперекисей. Кроме того, в присутствии кислорода эти реакции носят цепной характер, что может иметь существенное значение в усилении эффекта первичного действия радиации и повышении квантового выхода реакции.



Конечно, обрыв возникающей цепи в сложной системе живой клетки весьма вероятен, и если такие цепные процессы и возникают, то длительность их существования будет невелика.

Описанные выше процессы занимают ведущее место в разбавленных водных растворах. В живых системах большое количество воды прочно связывается с коллоидными структурами и концентрация высокополимерных веществ с учетом ассоциированной с ними воды достигает 45% [11].

Наряду с этими реакциями возможно непосредственное воздействие радиации на вещества микроструктур клетки. При этом вероятны следующие процессы [12, 13]



Следует подчеркнуть, что цепной характер процессов более вероятен в структурах с упорядоченно расположенными молекулами. Мы видим, что в случае непрямого и прямого воздействия радиации можно допустить образование перекисных и гидроперекисных производных сложных органических молекул непосредственно в момент облучения живых систем и после него.

Возможность подобных реакций была прослежена при облучении многих простых органических веществ: углеводов [14—19], эфиров [8, 10, 20, 21, 22], органических полимеров [23—27].

Рассмотрим некоторые реакции, имеющие специальный интерес для радиационной биохимии.

Шолес, Вейс и Уэллер [28] обнаружили при облучении водных растворов рибонуклеиновой (РНК) и дезоксирибонуклеиновой (ДНК) кислот в присутствии кислорода образование сравнительно устойчивых гидроперекисей. Выход был близок к 1 (количество молекул на 100 эв).



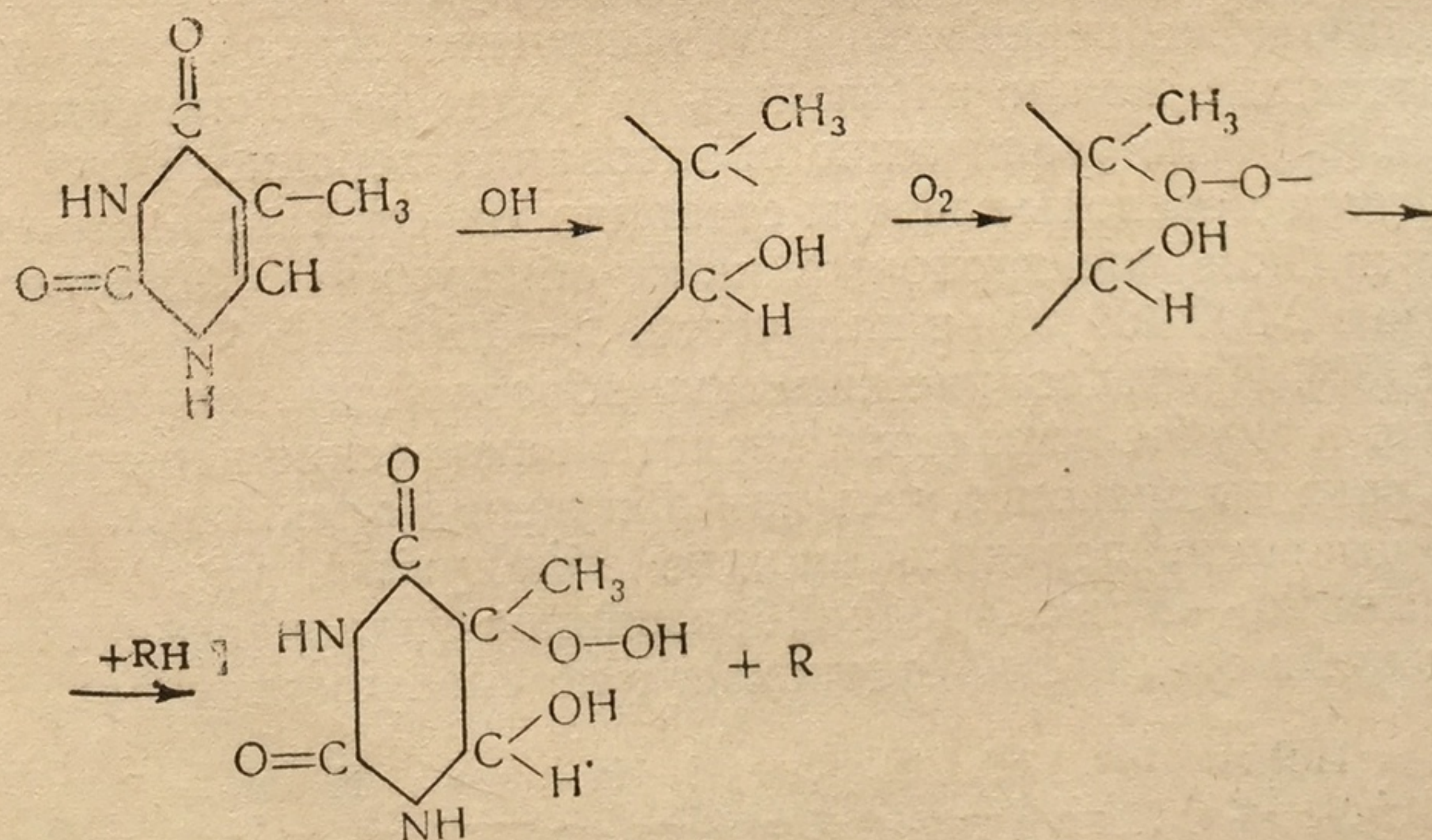
Ряд пиримидиновых оснований и нуклеотидов давали при облучении гидроперекиси, как это видно из результатов опыта, сведенных в табл. 6.

Таблица 6

Начальный выход гидроперекисей при облучении рентгеновыми лучами водных растворов нуклеиновых кислот, нуклеотидов, нуклеозидов и пиримидиновых оснований в присутствии кислорода (1 атм.) при pH ~ 7 [8]

Растворенное вещество	Концентрация, %	Выход гидроперекиси (молекул/100 эв)
ДНК (тимуса) . . . . .	0,10	1,10
РНК (дрожжей) . . . . .	0,10	0,80
Цитидиловая кислота . . . .	0,10	0,30
Уридиловая кислота . . . . .	0,10	1,00
Цитидин . . . . .	0,10	0,30
Уридин . . . . .	0,07	0,40
Дезоксицитидин . . . . .	0,06	0,40
Цитозин . . . . .	0,04	0,13
Урацил . . . . .	0,04	0,81
Тимин . . . . .	0,05	1,10

Обращает на себя внимание значительно больший выход гидроперекиси, получаемый при облучении тимина, по сравнению с цитозином. Урацил занимает промежуточное положение [4, 8]. Авторы предполагают следующую схему реакций:



Более легкая окисляемость тимина при облучении была показана также Савичем и Шальновым [29]. Относительно ус-



тойчивые гидроперекиси были обнаружены и при облучении ряда аминокислот и пептидов [30], как это видно из данных табл. 7.

Таблица 7

Начальный выход гидроперекисей при облучении рентгеновыми лучами ( $200 \text{ кВ}$ ;  $4,4 \times 10^3 \text{ рад/мин}$ ) водных растворов аминокислот и пептидов ( $10^{-2} \text{ М}$ ) в присутствии кислорода (1 атм.) при  $\text{pH} \sim 5,5$

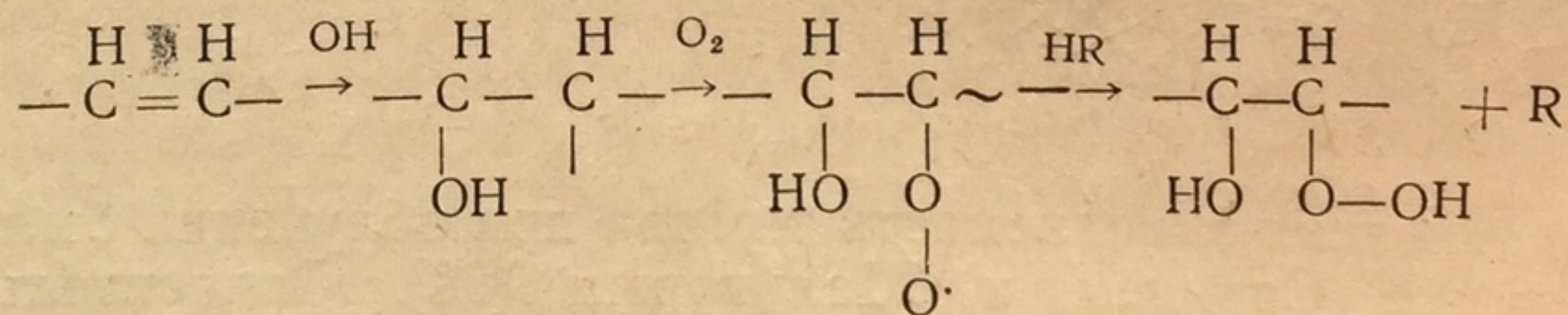
Растворенное вещество	Выход гидроперекиси (молекул/100 эв)
Изолейцин . . . . .	1,51
Лейцин . . . . .	1,04
Валин . . . . .	1,42
Норлейцин . . . . .	0,93
Глутаминовая кислота . . . . .	0,41
Аргинин . . . . .	0,29
Глицил-лейцин . . . . .	0,68
Лейцил-глицин . . . . .	0,56
Лейцил-глицил глицин . . . . .	0,50
Лейцил-тирозин ( $10^{-3} \text{ М}$ ) . . . . .	0,46

Наибольший выход гидроперекиси дают аминокислоты, содержащие третичный углеродный атом (изолейцин, валин).

Глицин, аланин, фенилаланин, гистидин, оксипролин не дали обнаруживаемых количеств гидроперекиси.

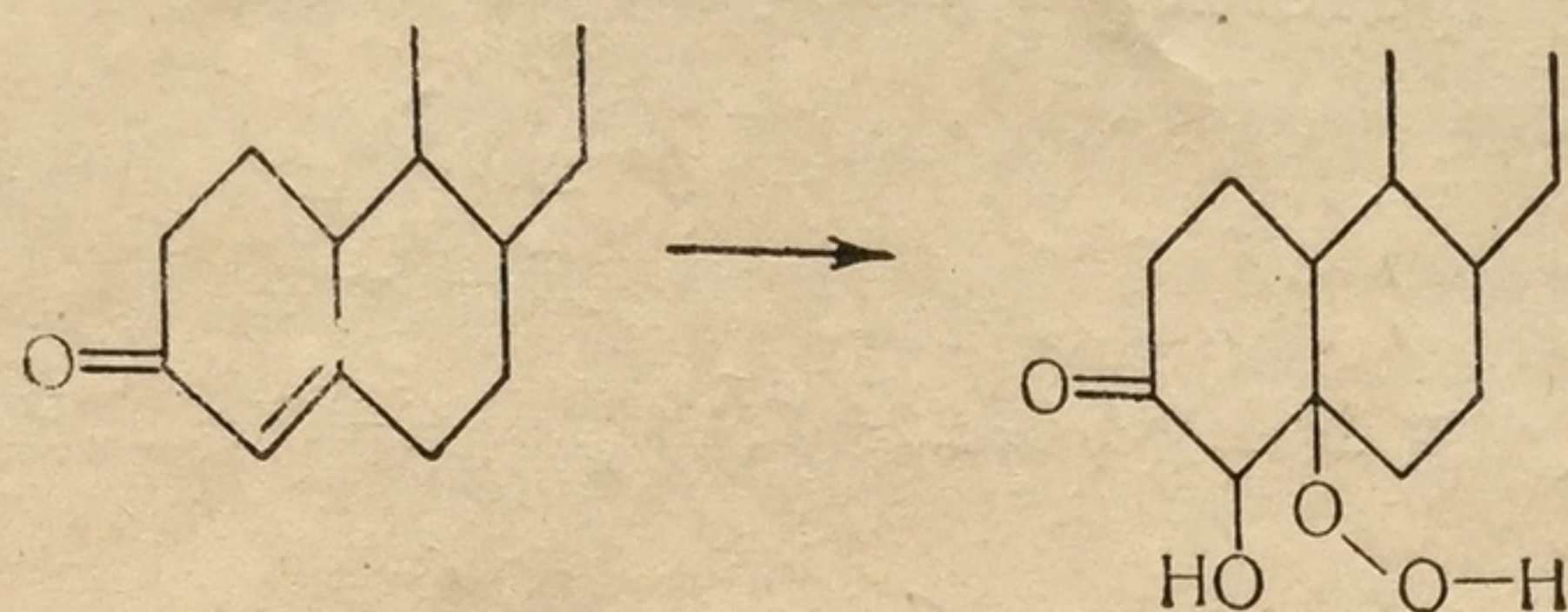
При облучении трипсина выход гидроперекиси был  $0,6 \text{ мол/100 эв}$  [8]. Хорошо известно, что окисление жиров, содержащих ненасыщенные жирные кислоты, идет через промежуточное образование перекисей. При облучении жиров этот процесс ускоряется, что можно наблюдать по укорочению индукционного периода [31] и по увеличению образования перекисей [32].

Облучая метиловые эфиры стеариновой, олеиновой, линолевой кислот пучком электронов, можно обнаружить гидроперекиси при дозе в  $2\,000\,000 \text{ фэр}$  в количестве  $2\text{—}3 \text{ мкМ}$  на  $1 \text{ г}$  облученных эфиров [33]. Исследование кинетики образования перекисей показало, что в случае линолевой кислоты накопление перекисей идет в  $2\text{—}3$  раза интенсивнее, чем при облучении олеиновой. Отчетливое образование перекисей можно обнаружить уже при дозах облучения  $2,5\text{—}5 \text{ тыс. р}$  [34]. Образование гидроперекисей из ненасыщенных соединений происходит по следующему пути:





Аналогичные пути образования гидроперекисей показаны и в случае облучения стерина [8].



Исследование ряда стероидных гормонов показало значительное образование перекисей при их облучении (см. табл. 8).

Таблица 8

Начальный выход перекисей при облучении водных растворов ( $10^{-4}$  M) некоторых стероидов (рентгеновы лучи 200 кВ;  $5,7 \times 10^3$  рад/мин, pH ~ 5,5 в присутствии кислорода, 1 атм.)

Стероид	Общий выход органических перекисей (молекул/100 Мэв)
Дезоксикортикостерон . . . . .	1,9
Кортизон . . . . .	1,9
Кортизол . . . . .	2,2
Преднизолон . . . . .	1,1
Преднизон . . . . .	1,0

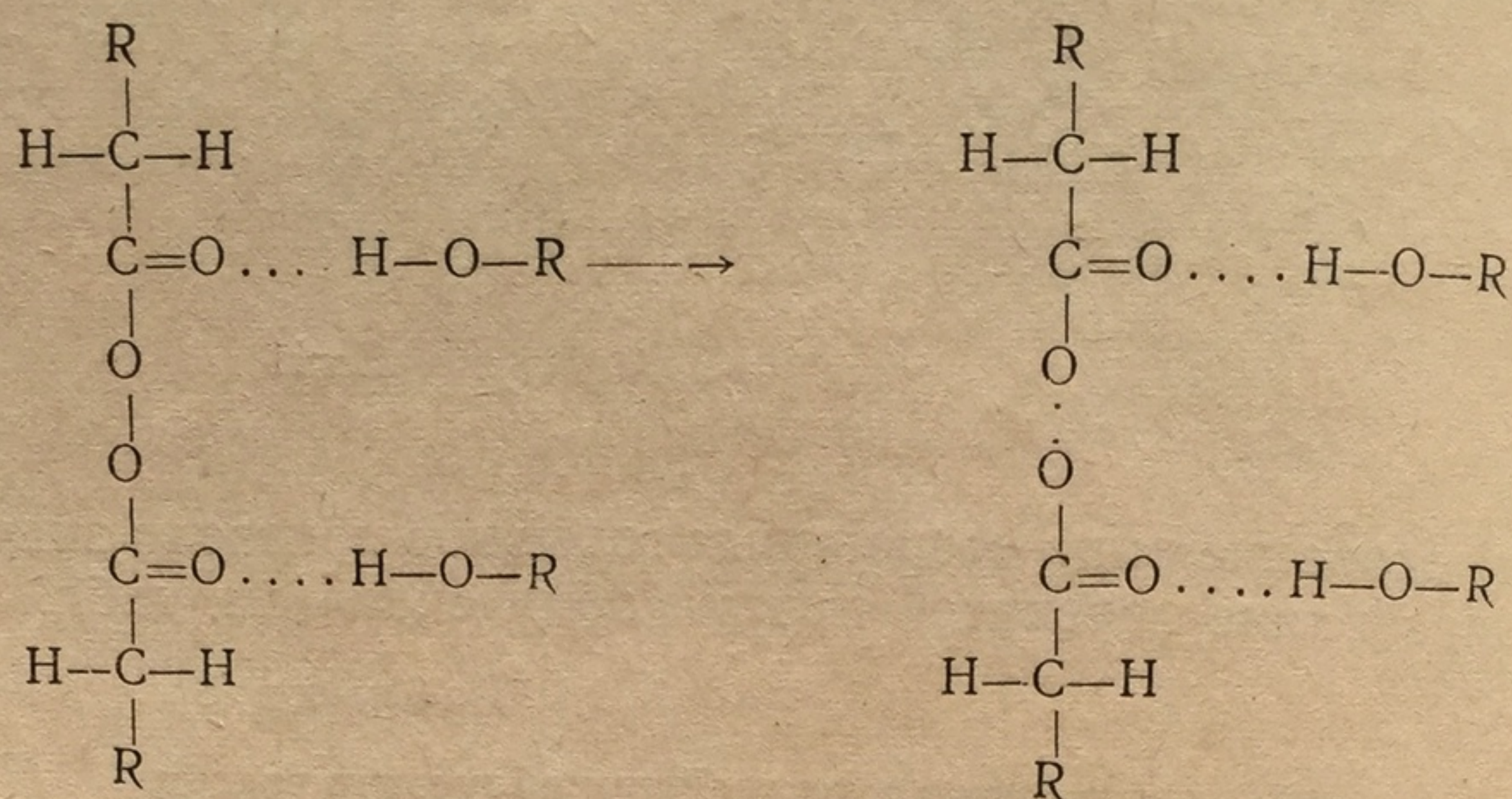
Образующиеся при облучении гидроперекиси и перекиси органических соединений обладают различной длительностью жизни, различной химической активностью. Однако все они значительно более устойчивы, чем первоначально образующиеся радикалы. Следовательно, перекиси как бы аккумулируют в себе энергию коротко живущих радикалов с возможностью реализации ее в более поздние сроки, что представляет большой интерес для понимания многих радиационных биохимических процессов. Некоторые перекиси сами имеют радикальный характер.

Так, например, Кузин, Каюшин, Коломийцева и Львов [35] показали методом электронного парамагнитного резонанса, что перекись янтарной кислоты является парамагнитной и дает сигнал, имеющий форму симметричного квартета с отношением интенсивностей 1:3:3:1.

Следует отметить, что неорганические перекиси: перекись водорода, перекиси щелочных и щелочно-земельных металлов, а также исследованные авторами перекиси бензоила и диоксиметилла являются диамагнитными [36, 37].



В случае перекиси янтарной кислоты механизм образования радикала, обуславливающего парамагнетизм перекиси янтарной кислоты, можно представить следующим образом:



О разрыве связи  $\text{O}-\text{O}$  свидетельствует симметричная форма сигнала, в то время как при разрыве связи  $\text{C}-\text{O}$  образовавшаяся смесь перекисного и органического радикалов давала бы несимметричный сигнал.

Освобождающийся при разрыве связи  $\text{O}-\text{O}$  неспаренный электрон взаимодействует с двумя протонами ближайшего атома углерода и с мостиковым протоном. Взаимодействие с мостиковым протоном соответствует величине расщепления в 12—18 гс [38]. Величина расщепления между линиями сигнала перекиси янтарной кислоты равна 19 гс.

В исследованных образцах, содержащих  $2 \cdot 10^{19}$  молекул перекиси янтарной кислоты, определялось  $2 \cdot 10^{15}$  парамагнитных центров.

Большая реакционная способность ряда образующихся при облучении перекисей, возможность цепного механизма их образования в присутствии кислорода воздуха, их относительная устойчивость позволяют предполагать, что образование перекисей играет существенную роль в начальных этапах действия радиации на сложные биохимические системы живой клетки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. J. Weiss. Nature, 153, 748, 1944.
2. J. Weiss. Ann. Rev. Phys. Chem., 4, 143, 1953.
3. J. Weiss. Experientia, 12, 280, 1956.
4. J. Weiss. В кн.: «Organic peroxides in radiology». Paris, 1958. p. 42.
5. П. Н. Долин. В кн.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиологического эффекта. М., 1960, стр. 20.
6. J. A. Chormley. Radiation Res., 5, 247, 1956.
7. A. O. Allen. Atomic Energy Commiss., Doc. D. M. DDC, 363, 1946.



8. G. Scholes, J. Weiss. *Radiation Res.*, Suppl., 1, 177, 1959.
9. G. Jayson, G. Scholes, J. Weiss. *J. Chem. Soc.*, 1358, 1957.
10. Н. А. Бах. *Radiation Res.*, Suppl., 1, 190, 1959.
11. А. М. Кузин. В сб.: *Радиобиология*. Изд-во АН СССР, 1958, стр. 3.
12. J. Bolland, P. Ten Haven. *Trans. Faraday Soc.*, 43, 201, 1947.
13. A. Chevallier, C. Burg. В кн.: «*Radiobiol. Symposium*», 1, 1954. London, 1955.
14. Н. А. Бах. Сборник работ по радиационной химии, М., 1955, стр. 145.
15. Н. А. Бах, Н. Л. Попов. Там же, М., 1955, стр. 156.
16. Н. А. Бах, Ж. У. Сорокин. Там же, М., 1955, стр. 163.
17. В. В. Сараева, Н. А. Бах, Л. В. Рубин, В. А. Ларин. В сб.: Действие ионизирующих излучений на неорганические и органические системы. М., 1955, стр. 125.
18. P. G. Clay, G. R. A. Johnson, J. Weiss, *J. Chem. Soc.*, 2175, 1958.
19. G. R. A. Johnson, J. Weiss. *Chem. f. Ind. London*, 358, 1955.
20. В. В. Сараева, Б. Ж. Ладыгин, Нам Чан-Син. *Журн. физ. химии*, 34, 759, 1960.
21. G. Scholes, J. Weiss. *Nature*, 173, 267, 1954.
22. G. Scholes, W. Taylor, J. Weiss. *J. Chem. Soc.*, 235, 1957.
23. D. S. Ballantine, G. J. Dienes, B. Manowitr, P. Ander, R. B. Mesrobian. *J. Polymer Sci.*, 13, 410, 1954.
24. Н. А. Словохотова, В. Л. Карпов. Сборник работ по радиационной химии, М., 1955, стр. 196.
25. A. Chapiro. В кн.: «*Internat. Sympos. on Macromolecules*». Nottingham, 1958.
26. P. V. Feng, J. W. Kennedy. *J. Amer. Chem. Soc.* 77, 847, 1955.
27. M. Magat. *Radiation Res.*, Suppl. 1, 204, 1959.
28. G. Scholes, J. Weiss, C. M. Wheeler. *Nature*, 178, 157, 1956.
29. А. В. Савич, М. М. Шальнов. *Радиобиология*, 1, 23, 1961.
30. S. Okada. В кн.: «*Organic peroxides in radiobiology*». Paris, 1958, p. 46.
31. R. S. Hannan, H. J. Shepherd. *Brit. J. Radiol.*, 27, 36, 1954.
32. А. П. Журавлев. В сб.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиологического эффекта. М., 1960, стр. 55.
33. R. S. Hannan, J. W. Boag. *Nature*, 169, 152 (1952).
34. A. Chevallier, C. Burg. *Ann. nutr. et aliment.*, 7, 81, 1953.
35. А. М. Кузин, Л. П. Каюшин, И. К. Коломийцева, К. М. Львов. В кн.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиологического эффекта. М., 1960, стр. 99.
36. А. Б. Нейдинг, И. А. Казарновский. *Журн. физ. химии*, 8, 1167, 1952.
37. И. А. Казарновский, А. Б. Нейдинг. Докл. АН СССР, 86, 4, 717, 1952.
38. W. Gordy, W. B. Ard, H. Shields. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 41, 11, 996, 1955.



## ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ПРОСТЫЕ БЕЛКИ И ПРОДУКТЫ ИХ РАСПАДА

**Б**елки составляют основу жизни, ее неотъемлемый материальный субстрат, и поэтому рассмотрение их изменений под влиянием ионизирующих излучений, несомненно, занимает центральное место при исследовании биохимических основ биологического действия излучений.

В различных организмах по количественному содержанию белки занимают второе место после воды, составляя от 50 до 97% сухого веса различных организмов (табл. 9).

Таблица 9  
Содержание белков в различных организмах, органах и тканях

Объект исследования	Содержание на сырой вес, %	Содержание на сухое вещество, %
Организм человека в целом . . . . .	14,8—18,9	45
мышцы . . . . .	18—23	80
печень . . . . .	18—19	57
селезенка . . . . .	17—18	84
почки . . . . .	16—17	72
мозг . . . . .	7—9	
пищеварительный тракт . . . . .		63
Рыбы . . . . .	16—18,7	
Листья . . . . .	1,2—3	
Семена . . . . .	10—13	
Плазмодии . . . . .		39,8
Микроорганизмы		
бактерии . . . . .		50—93,7
вирусы . . . . .		81,2—97
дрожжи . . . . .		31—62
плесени . . . . .		13,7—43,6



Благодаря высокому содержанию белков в живой ткани, значительное количество энергии ионизирующих излучений, поглощенной тканью, будет непосредственно воспринято высокополимерными молекулами белка и надмолекулярными белковыми структурами. Даже незначительные изменения этих структур под влиянием радиации могут привести к существенным биологическим сдвигам, так как тонкая отрегулированность жизненных процессов теснейшим образом связана и обусловлена нативным состоянием белковых структур.

Кроме того, ферменты белковой природы являются регуляторами всех биохимических процессов, происходящих в живом организме. Вот почему даже незначительное изменение природы белков может привести к существенным сдвигам и отклонениям от нормы биохимических реакций и, вследствие этого, к нарушению физиологических процессов.

Участие белков в построении всех жизненно важных структур организма, их большой молекулярный вес и способность образовывать наиболее сложно построенные макромолекулы нуклеопротеидов, играющих ведущую роль в различных проявлениях жизни, подчеркивают необходимость исследования их изменений после воздействия радиации.

Наконец, изучение характера воздействия ионизирующей радиации на белки представляет большой интерес для понимания и оценки возможности использования ионизирующей радиации для стерилизации многих медицинских препаратов, для консервации пищевых продуктов, т. е. всюду, где объект облучения богат белковыми веществами.

При рассмотрении воздействия ионизирующей радиации на простые белки нас будут интересовать изменения, происходящие с водными белковыми растворами и препаратами сухих белков. Водные растворы в большей степени воспроизводят состояние белка в живых структурах, чем опыты с сухим дегидратированным белком.

С другой стороны, благодаря высокой концентрации белка в отдельных субмикроскопических структурах клетки и большого значения «прямого» действия радиации на молекулы белка, часто исследование действия радиации на сухой белок лучше информирует нас о возможных его превращениях при таком «прямом» воздействии.

При действии ионизирующей радиации на раствор белка (как и на любой раствор) возможно поглощение фотона или непосредственно молекулой белка (прямое действие) или же молекулами растворителя — воды и последующей реакцией образующихся радикалов воды с растворенными в ней молекулами белка (непрямое действие). Несомненно, что при облучении растворов и живых организмов всегда будет иметь место и тот и другой механизм действия. При поглощении фотона макромолекулой белка



она может приобрести весьма значительную энергию, способную перевести молекулу в многократно возбужденное состояние (по многим связям), разорвать большое количество внутримолекулярных связей, вызвать многократную ионизацию макромолекулы.

При непрямом действии активные радикалы воды, возникающие в непосредственной близости от белковой молекулы (а быть может, и непосредственно в самой белковой молекуле за счет гидратационной воды, входящей в коллоидальную структуру белка), будут реагировать с поверхностно расположенными группами атомов, возбуждая нарушение связей и перегруппировки, легко распространяющиеся по всей толще макромолекулы. Значительно больший процент инактивации для многих белков, находящихся в разбавленных растворах по сравнению с препаратами сухих белков, наличие «защитного» эффекта от добавляемых веществ, устойчивость к инактивации с повышением концентрации в определенных интервалах разведения — говорят нам о том, что удельное значение непрямого действия радиации на разбавленные растворы белков значительно выше непосредственного попадания в растворенную молекулу.

Однако при переходе от разбавленных к более концентрированным растворам и, тем более, при рассмотрении процессов, возникающих при облучении живой клетки, удельное значение прямого действия будет, несомненно, возрастать.

В настоящее время у нас нет достаточного экспериментального материала, позволяющего допустить принципиально иное превращение молекул при прямом и непрямом действии. Напротив, наиболее вероятно допустить, что и в том и в другом случае мы будем иметь дело с ионизированной или возбужденной молекулой, в дальнейшем претерпевающей одинаковые превращения.

Как известно, белковые молекулы представляют собой электрозаряженную коллоидную частицу, свойства которой прежде всего зависят от ее поверхностного потенциала, от устойчивости покрывающих ее гидратационных оболочек и от природы тех электролитов или коллоидов не белковой природы, которые с ней соединены.

Непосредственная ионизация белковой частицы и воздействие на нее радикалов воды могут привести к изменению величины ее поверхностного потенциала и тем самым вызвать денатурационные изменения облучаемого белка. В строении белковой макромолекулы большую роль играют водородные связи между пептидными цепями, для разрыва которых требуется незначительная энергия — 2—9 ккал.

Однако водородные связи не только легко нарушаются, но так же легко могут возникать вновь. Для получения заметных изменений в строении макромолекулы должно произойти одновремен-



ное нарушение большого числа водородных связей, для которого потребуются значительные дозы проникающей радиации.

Прежде всего, следует подчеркнуть, что поглощение высокоэнергетического фотона макромолекулой белка сопровождается рядом существенных физических явлений. Энергия фотона (корпускулярной частицы), поглощенная в любом месте гигантской молекулы белка, может перемещаться, мигрировать по этой молекуле до ее наиболее «чувствительных» мест, где и происходит реализация поглощенной энергии в виде разрыва связи, отщепления атома или групп атомов и образования свободно радикального состояния молекулы. Так, например, при облучении гемоцианина  $\alpha$ -частицами при их первоначальном попадании в любое место огромной молекулы гемоцианина (мол. в. — 10 млн.) всегда наблюдался распад молекулы на две примерно равные части, что указывало на реализацию поглощенной энергии в определенной части молекулы [1]. Горди с сотрудниками [2] показали, что при облучении серусодержащих белков рентгеновыми лучами состояние ненасыщенной валентности локализуется в тех частях молекулы, где имеется аминокислота цистин. Атомы серы служат как бы источником электронов, компенсируя их убыль в любом месте молекулы при ее ионизации.

В белках, не содержащих цистина, методом электронного парамагнитного резонанса было показано, что локализация неспаренного электрона происходит у атомов кислорода, участвующих в образовании водородных связей [2]. Как указал Л. Х. Эйбус [3], многие явления защиты белковой молекулы в присутствии веществ, вступающих с ней в комплексное соединение, довольно легко объяснить, если допустить возможность миграции поглощенной энергии по белковой молекуле [4].

Возможность миграции допускает и Платцман, который рассматривал физические механизмы изменения вторичной структуры белков под влиянием ионизирующей радиации [5].

Энергия, поглощенная макромолекулой белка, приводит к образованию радикального состояния белковой молекулы. Используя метод электронного парамагнитного резонанса, Горди [2], Блюменфельд и Калмансон [6] показали, что при облучении белков удается обнаружить слабые сигналы, говорящие о большой степени делокализации неспаренных электронов в белковой молекуле. Интересно, что при облучении белков, предварительно денатурированных нагреваниями, резко увеличивается амплитуда сигнала. По-видимому, общее нарушение упорядоченности структуры белковой молекулы, вызванное тепловой денатурацией, снижает возможности рекомбинации электронов и «дырок», возникающих под влиянием облучения, которое, в свою очередь, и приводит к увеличению образования свободных радикалов [7].

Белковые молекулы могут находиться в свободнорадикальном, активированном состоянии достаточно длительное время в безводной и бескислородной среде.



В литературе имеется ряд указаний на то, что при облучении белок переходит в неустойчивое состояние, которое может быть выявлено дополнительным воздействием другого фактора.

Баррон и Финкельштейн [8] показали, что при облучении сывороточного альбумина в растворе рентгеновыми лучами при 3° не наблюдается видимого изменения раствора. Однако последующее нагревание раствора до 25°, даже спустя длительное время после облучения, приводило к коагуляции белка, которая никогда не наблюдалась в необлученных растворах.

Сэтлоу [9] наблюдал повышенную чувствительность каталазы к тепловой инактивации после ее облучения дейтронами. Доказательство перехода белковой молекулы под влиянием облучения в особое, богатое энергией состояние было продемонстрировано в изящных экспериментах Эйдуса с сотрудниками [10]. Авторы облучали растворы миозина (50 тыс. *p*) в отсутствие кислорода и обнаружили, что в условиях опыта его АТФ-азная активность почти полностью сохранялась (95—97% первоначальной активности). В таком состоянии облученный миозин мог сохраняться часами. Однако достаточно было дать кислород, как тотчас же происходило скачкообразное падение активности (до 71%).

Авторы выдвигают представление о возможности длительной «консервации» энергии в молекулах белка при его облучении с последующим изменением молекулы под влиянием добавочных факторов. Была показана особая чувствительность таких «возбужденных» молекул белка к кислороду и тепловым воздействиям, причем для проявления этих воздействий присутствие воды обязательно [11]. Облучение растворов белка в присутствии кислорода и при комнатной температуре в достаточно больших дозах приводит к денатурационным изменениям белковой молекулы. Исследования Баррона [12] показали увеличение поглощения ультрафиолетовых лучей растворами сывороточного альбумина быка ( $1 \cdot 10^{-5}$  М) после рентгеновского облучения в дозах 50—100 тыс. *p*. Это увеличение показано на рис. 9.

Баррон указывает, что увеличение поглощения может быть обнаружено и при значительно меньших дозах облучения. Хенох и Лапинская [13] проследили за изменениями спектров поглощения в растворе яичного альбумина и казеина под влиянием  $\gamma$ -излучения  $\text{Co}^{60}$ .

Характер изменений белков аналогичен характеру изменений обнаруженных теми же авторами в растворах ароматических аминокислот (фенилаланина и тирозина).

При облучении растворов альбумина и глобулина при рН 3,0 удается обнаружить частички с большей константой седиментации, которая допускает возможность димеризации белка, вероятнее всего за счет окисления сульфгидрильных групп.

В присутствии цистеина этот димерный белок не был обнаружен.



Пасынский и Павловская [14], наблюдая повышение кривых поглощения облученных белков в области 240—230 мк, показали, что в присутствии различных антиагрегирующих веществ (цистеин, каприлат натрия, формамид) наблюдаемый эффект исчезает.

Полученные данные авторы объясняют усилением рэлеевского рассеяния ультрафиолетовых лучей на агрегированных частицах белка и предполагают, что под влиянием облучения происходит агрегация белковых молекул — возможно за счет образования дисульфидных мостиков.

Можно думать, что образующиеся радикальные молекулы белка реагируют между собой, образуя «сшивки», которые при облучении ( $11,5 \cdot 10^{19}$  эв/мл) 5%-ных растворов желатины, например, уменьшают ее способность к набуханию и переходу желатинового студня в растворимое состояние [15].

Процессы агрегации или полимеризации белка были обнаружены путем измерения скорости седиментации и образования нерастворимых компонентов как при облучении растворов фибриногена мягкими рентгеновыми лучами [16], так и при облучении сухого белка высокоскоростными электронами [17].

Наряду с агрегацией наблюдается распад молекул, регистрируемый по падению приведенной вязкости и уменьшению молекулярного веса. Интересно, что фибриноген из плазмы человека оказался более чувствителен к действию радиации, чем бычий фибриноген [17]. При облучении сухого фибриногена указанные изменения обнаруживались при дозах 500 000 р и выше.

Ряд исследователей изучал изменение свойств мономолекулярных слоев белка под влиянием радиации [18—20]. Используя предложенный Лангмюр-Адамом метод Коргонкар и Десаи [21],

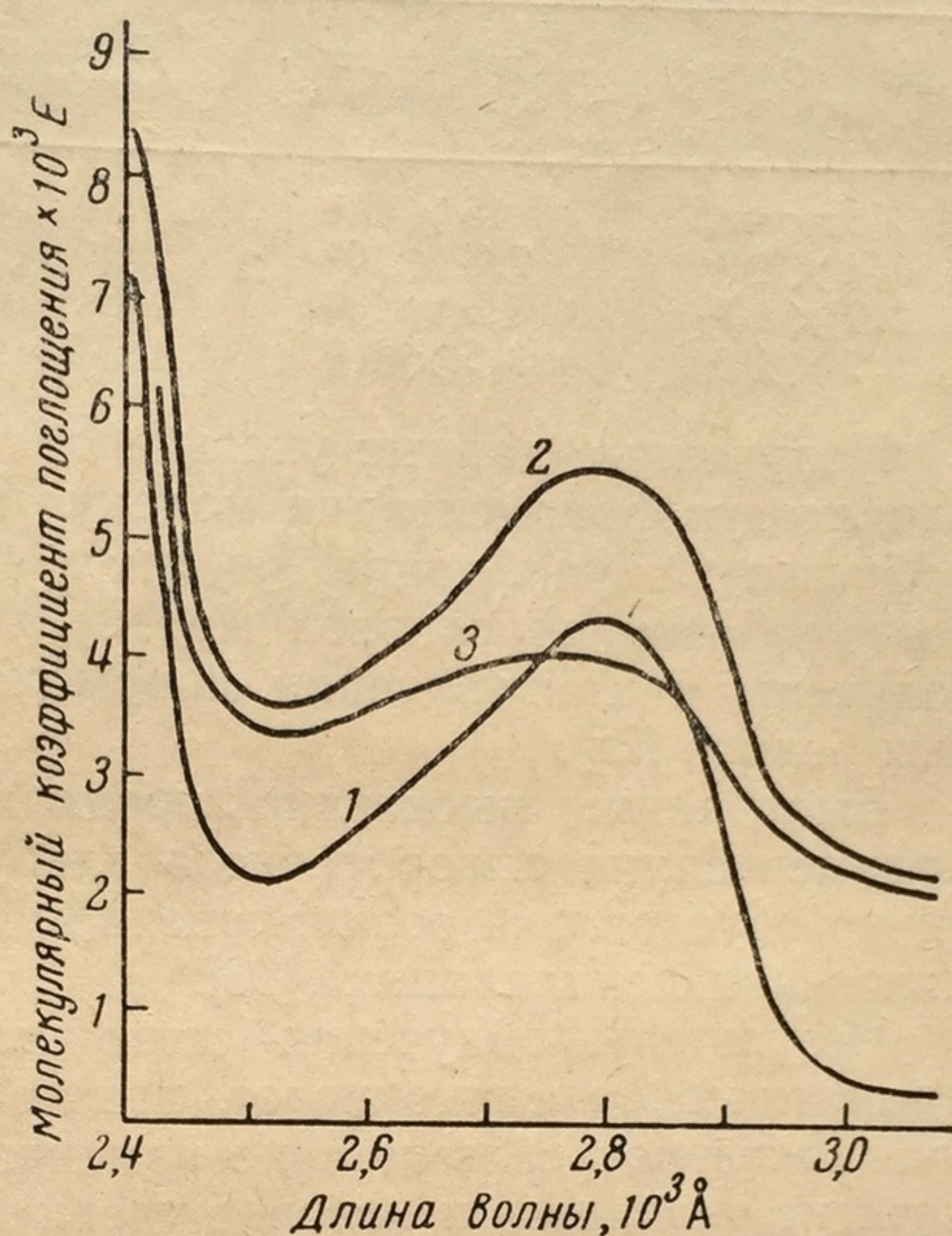


Рис. 9. Влияние рентгеновского облучения на спектр поглощения водных растворов сывороточного альбумина быка ( $1 \cdot 10^{-5}$  М)

1 — контроль; 2 — облучение 50 000 р; 3 — облучение 100 000 р (после удаления центрифугированием коагулировавшего белка)



провели исследование изменений свойств мономолекулярного слоя гистона после его облучения  $\beta$ - и  $\gamma$ -лучами радона в дозах 40, 270 и 670 тыс.  $p$ . Были обнаружены следующие изменения:

Доза облучения, $p$	Средний молекулярный вес	Площадь, занимаемая молекулой в монослое	Минимальная сжимаемая площадь
Контроль	$15 \times 10^3$	2,8	0,13
$0,4 \times 10^5$	$7,8 \times 10^3$	2,0	0,16
$2,7 \times 10^5$	$4,4 \times 10^3$	1,4	0,21
$6,7 \times 10^5$	$3,5 \times 10^3$	1,1	0,34

Полученные данные указывают, что под влиянием облучения происходит фрагментация молекул гистона, высвобождение гидрофильных групп, направленных в водный слой, снижающих остаточный заряд белковой молекулы. Близкие результаты были получены и при изучении мономолекулярных слоев сывороточных белков [22].

Было также высказано предположение, что наблюдаемая полимеризация сывороточного альбумина после облучения частично обусловлена возникновением дифенильных связей за счет окисления фенилаланина [23].

Результаты облучения сальмина — белка, не содержащего ароматических аминокислот, подтвердили эту гипотезу. Облучение растворов сальмина не изменило константы седиментации, хотя наблюдалось некоторое увеличение оптической плотности в ультрафиолетовой области, которое было неспецифическим и намного меньше по сравнению с данными, полученными для облученного сывороточного альбумина. Попытки обнаружить электрофоретическим методом изменение структуры белков сыворотки крови при их облучении *in vitro* не дали отчетливых результатов даже при дозах 50—250 тыс.  $p$  [24].

Наши исследования совместно с Плышевской показали большую чувствительность растворов миозина к ионизирующему облучению. Уже при облучении дозами в 50 000  $p$  наблюдались интенсивные денатурационные процессы, следить за которыми можно было измеряя мутность растворов на фотометре Пульфриха. Особенно интересно было проследить за характером последствий (табл. 10).

Таблица 10  
Изменение мутности раствора миозина после облучения

Время после облучения 50 000 $p$	Мутность системы (экстинкция)
Исходный раствор . . . . .	0,11
После облучения через 5 мин. .	0,27
» » » 10 мин. .	0,75
» » » 15 мин. .	1,10
» » » 25 мин. .	1,35



В присутствии полисахаридов, таких, как гликоген, образующих комплексные соединения с миозином, наблюдается значительная защита белка.

Присутствие полисахарида, не образующего с миозином комплекса, например, инулина, не оказывает защитного действия, что отчетливо видно из кривых, представленных на рис. 10, 11 и 12 [25].

Денатурационные изменения глобулярных белков могли быть выявлены по усилению способности к комплексообразованию с гликогеном при облучении их растворов в дозе 5000  $p$  [26].

За начальными денатурационными изменениями белка можно также следить и по уменьшению способности сывороточного альбумина связывать анионные красители (оранж II) и по увеличению связывания ионов меди ( $Cu^{++}$ ). Эти методы обнаруживали изменения при облучении *in vitro* в дозах 16—60 тыс.  $p$  [27].

Пасынский, Волкова и Блохина [28] предложили следить за денатурационными изменениями глобулярных белков по изменению адсорбции меченых аминокислот.

Определяя количество поглощенного меченого метионина разбавленными растворами сывороточного альбумина (0,1%) человека, авторы отмечают изменение уже при дозах в 400—500  $p$  и предполагают, что освобождающиеся при денатурационном действии облучения сульфгидрильные группы приводят к повышенному связыванию метионина [29].

Таким образом, мы видим, что под влиянием ионизирующей радиации происходят тонкие денатурационные изменения белковых макромолекул, выявляемые в зависимости от чувствительности метода как при больших дозах воздействия, так и сравнительно малых, сопоставимых с минимальными дозами, вызывающими летальный эффект при облучении живых организмов.

При больших дозах воздействия макромолекулы белка могут претерпевать изменения и за счет более глубоких химических изменений тех активных групп, которыми покрыта поверхность белковой глобулы.

К этим группам будут принадлежать карбоксил дикарбоновых аминокислот, аминогруппа диаминокислот, гуанидиногруппа аргинина, оксигруппы серина и треонина, сульфгидрильные группы цистеина и метионина, оксифенильные группы тирозина, индольные и имидазольные кольца триптофана и гистидина. При действии окисляющих радикалов  $OH$  и  $HO_2$  возможно окислительное



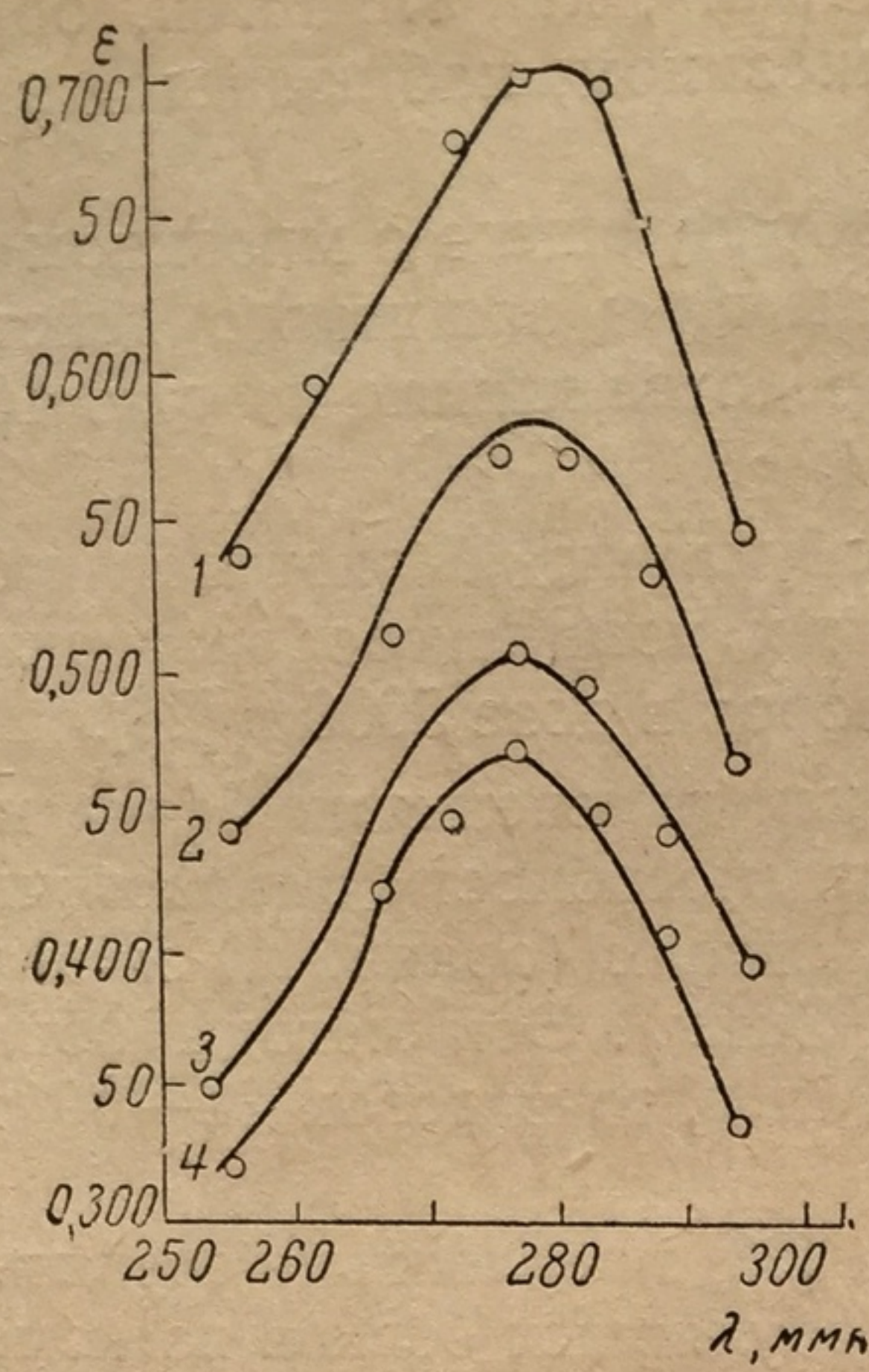


Рис. 10. Кривые адсорбции миозина после облучения его растворов  
1 — исходный раствор миозина; 2 — облучение 60 000 p; 3 — облучение 100 000 p; 4 — облучение 140 000 p

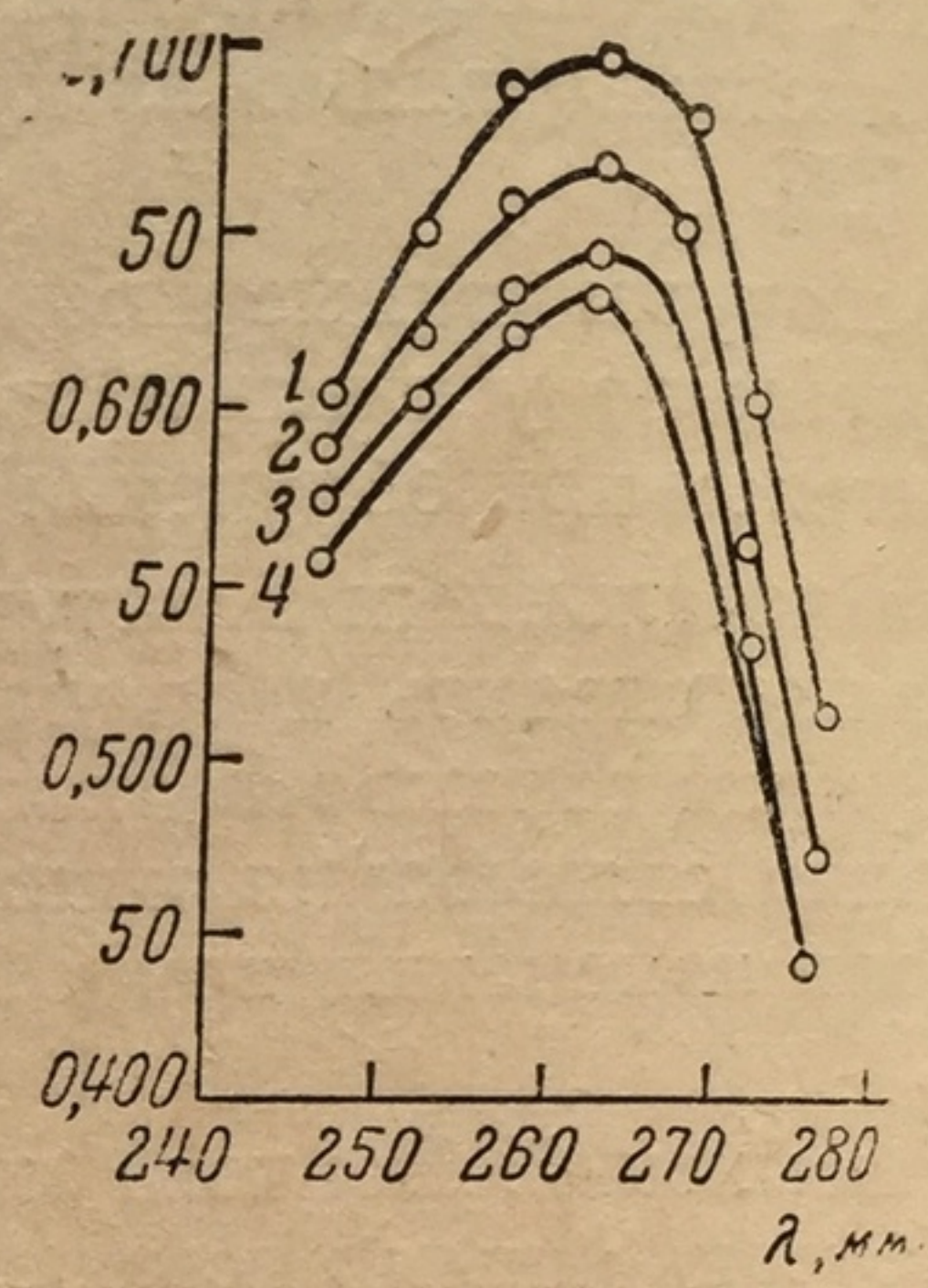


Рис. 11. Кривые адсорбции миозина после облучения его раствора в присутствии гликогена  
1 — исходный раствор комплекса миозин+гликоген; 2 — облучение 60 000 p; 3 — облучение 100 000 p; 4 — облучение 140 000 p

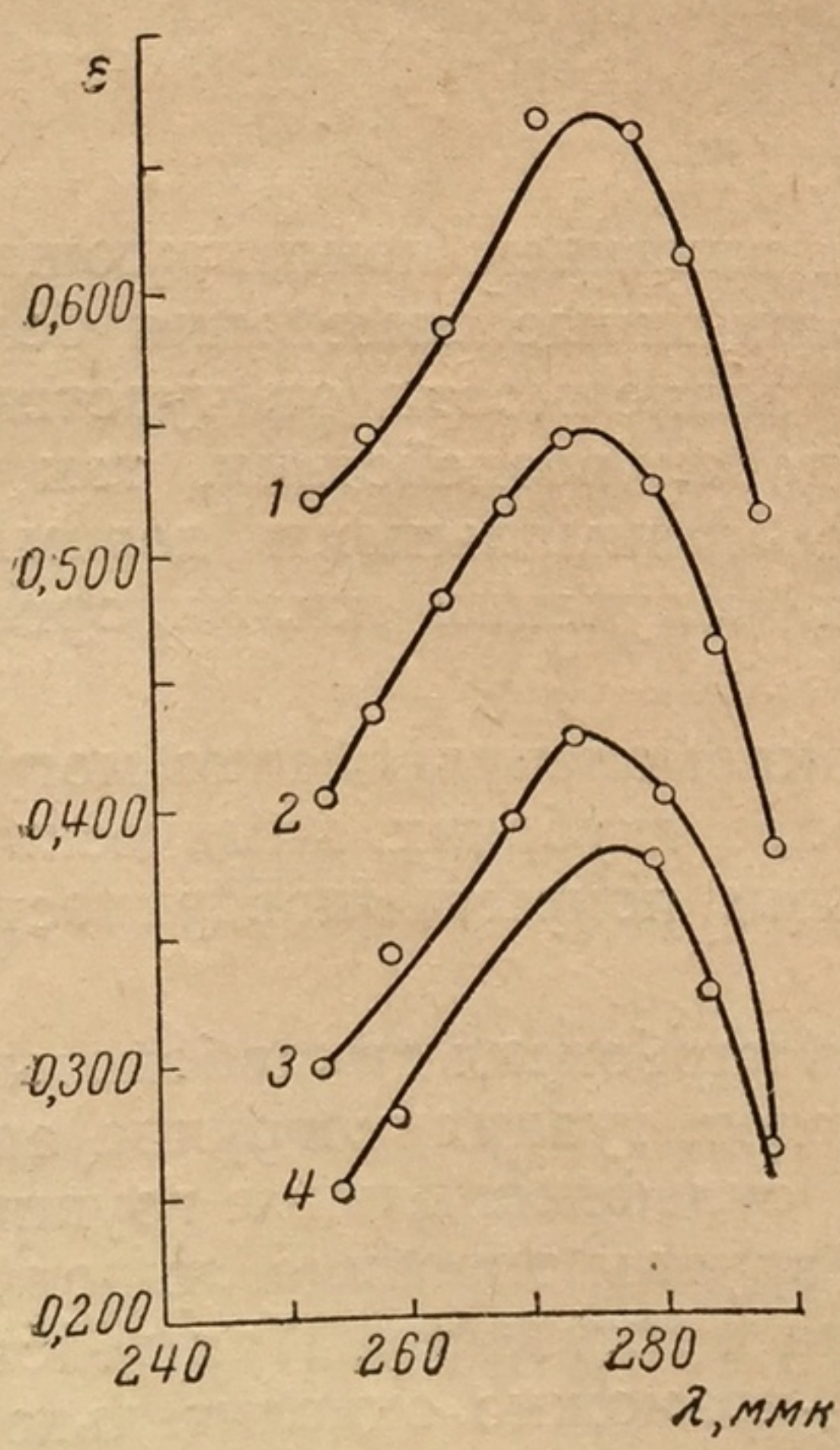


Рис. 12. Кривые адсорбции миозина после облучения его растворов в присутствии инулина  
1 — исходный раствор миозин+инулин; 2 — облучение 60 000 p; 3 — облучение 100 000 p; 4 — облучение 140 000 p

декарбон  
миниров  
Проц  
проника  
Наиболе  
бодных а  
Еще  
обнаруж  
ров своб  
ного гли  
Поздн  
аминокис  
жили вы  
табл. 11.  
Выход амм  
Глицин .  
Глицин + 1  
Глицин + 8  
Аланин .  
β-аланин .  
Гистидин  
Гистидин-мо  
Лизин-моно  
Пролин .  
\* В контро  
Как в  
шими доз  
малая ча  
составляе  
группа, т  
соседней  
ногруппа  
в молеку  
распад: д  
вторая ка  
О раз  
Хеноха и  
Интер  
удлинени  
авторами  
4 А. М. Ку



декарбоксилирование с выделением  $\text{CO}_2$ , и окислительное дезаминирование с образованием аммиака.

Процессы окислительного дезаминирования под влиянием проникающих излучений были показаны в ряде исследований. Наиболее отчетливо они продемонстрированы на растворах свободных аминокислот.

Еще в 1941 г. Хенох [30], исследуя действие излучения радия, обнаружил выделение аммиака не только при облучении растворов свободных аминокислот, но и при облучении ацетилированного глицина, пролина и дикетопиперазина.

Позднее Дейл и его сотрудники [31] облучали 0,13 М растворы аминокислот. При дозах, превышающих 100 000 р, они обнаружили выделение аммиака. Полученные данные представлены в табл. 11.

Таблица 11

Выход аммиака у различных аминокислот при облучении 0,13 М растворов рентгеновыми лучами в дозе 166 000 р

Аминокислота	$\text{NH}_3$ , мкг/мл	Аминокислота	$\text{NH}_3$ , мкг/мл
Глицин . . . . .	8,1	Аргинин . . . . .	7,5
Глицин + 1 экв $\text{HCl}$ . . . . .	5,0	Цистин + 1 экв $\text{HCl}$ . . . . .	6,3*
Глицин + 8 экв $\text{NaOH}$ . . . . .	8,0	Цистин + 1 экв $\text{NaOH}$ . . . . .	19,0*
Аланин . . . . .	7,2	Метионин . . . . .	6,6
$\beta$ -аланин . . . . .	4,3	Глицинангидрид . . . . .	1,3
Гистидин . . . . .	11,8	Глицилглицин . . . . .	12,5
Гистидин-моногидрохлорид . . . . .	10,6	Глицилглицин + 1 экв $\text{HCl}$ . . . . .	3,8
Лизин-моногидрохлорид . . . . .	3,7	Лейцилглицин . . . . .	6,6
Пролин . . . . .	0	Диглицилглицин . . . . .	7,0

\* В контрольном опыте также выделялось некоторое количество  $\text{NH}_3$ .

Как видно из приведенных цифр, при облучении весьма большими дозами (166 000 р) распаду подвергается только ничтожно малая часть облучаемой аминокислоты; для 0,13 М раствора это составляет 0,3—0,6%. Наиболее легко дезаминируется  $\alpha$ -аминогруппа, так как она находится под непосредственным влиянием соседней отрицательно заряженной карбонильной группы. Аминогруппа в  $\beta$ -положении почти в два раза устойчивее. Введение в молекулу второй отрицательной группы несколько усиливает распад: двойные связи имидазольного кольца в гистидине или вторая карбонильная группа в глицилглицине.

О разрушении аминокислот (0,04 М) свидетельствуют данные Хеноха и Лапинской [15], представленные в табл. 12.

Интересно отметить повышение устойчивости к облучению с удлинением углеродной цепочки аминокислоты, что объясняется авторами как самозащита продуктами деструкции.



Таблица 12

## Дезаминирование аминокислот под влиянием облучения

Доза, в р	NH <sub>3</sub> , мг/100 мл облученного раствора		
	глицина	валина	лейцина
191 000	0,70	0,65	0,42
382 000	1,48	1,14	0,72
545 000	2,15	—	—
860 000	3,10	2,2	1,27

Далее было показано, что с увеличением концентрации аминокислоты возрастает выход аммиака (рис. 13).

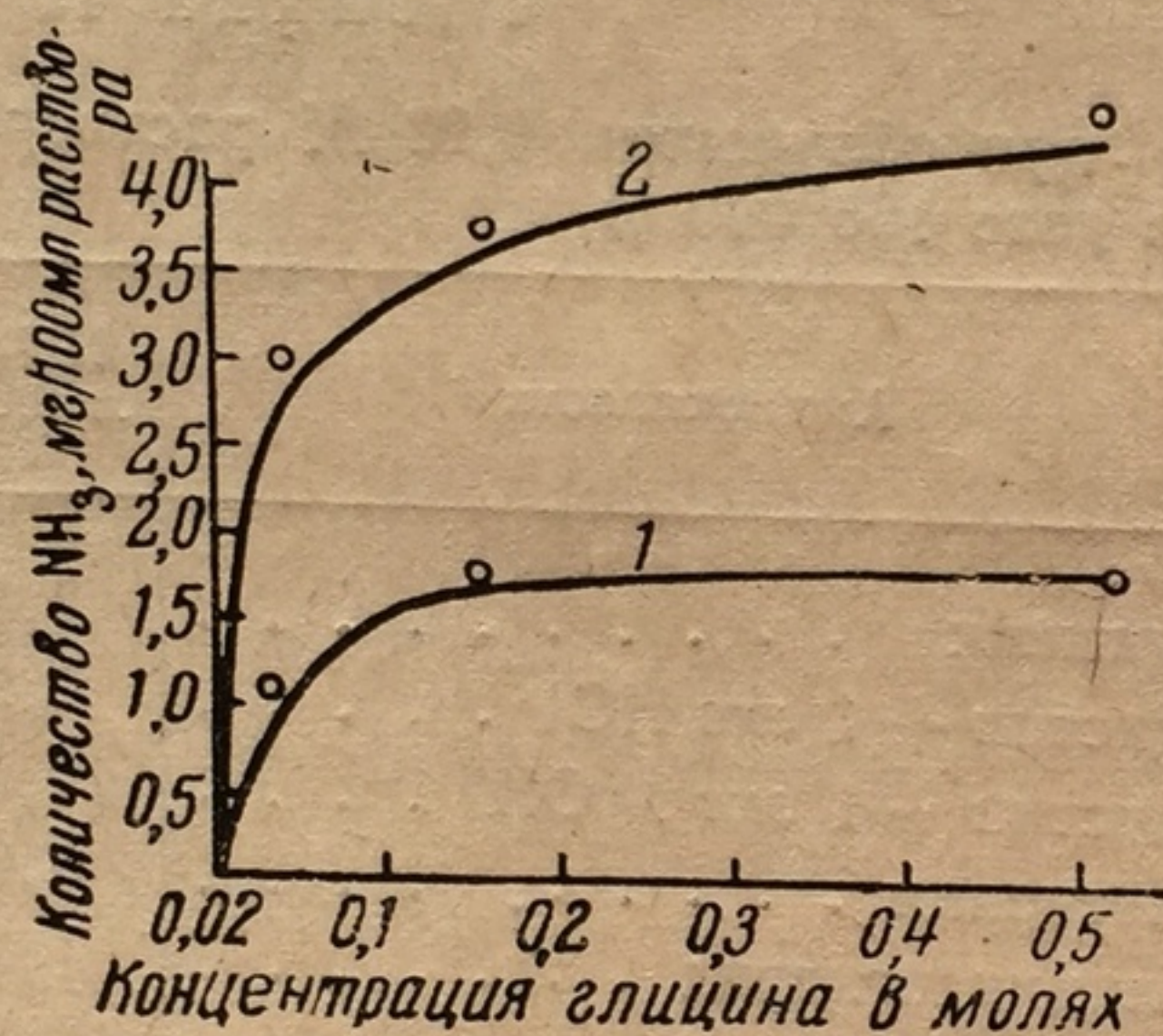


Рис. 13. Зависимость выхода аммиака от концентрации аминокислоты  
1 — облучение  $394 \cdot 10^3$  р; 2 — облучение  $878 \cdot 10^3$  р

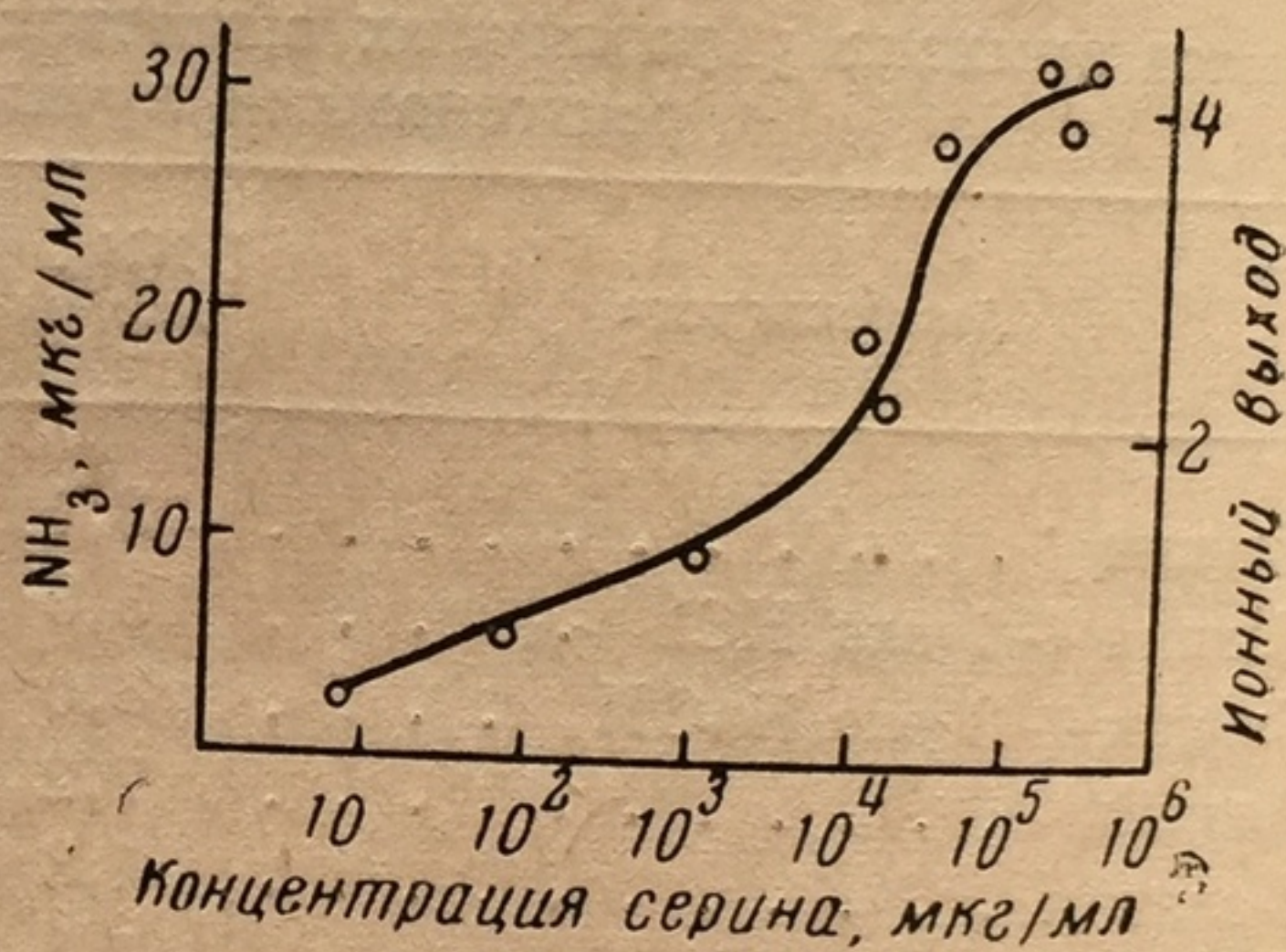


Рис. 14. Зависимость выхода аммиака от концентрации серина

Увеличение выхода NH<sub>3</sub> не пропорционально возрастанию концентрации аминокислоты, что указывает на не прямое действие ионизирующих излучений.

При изучении действия  $\beta$ -излучения, находящегося в растворе  $P^{32}$ , те же авторы отметили не только распад аминокислот с образованием NH<sub>3</sub>, но и более глубоко идущий окислительный распад с образованием альдегидов.

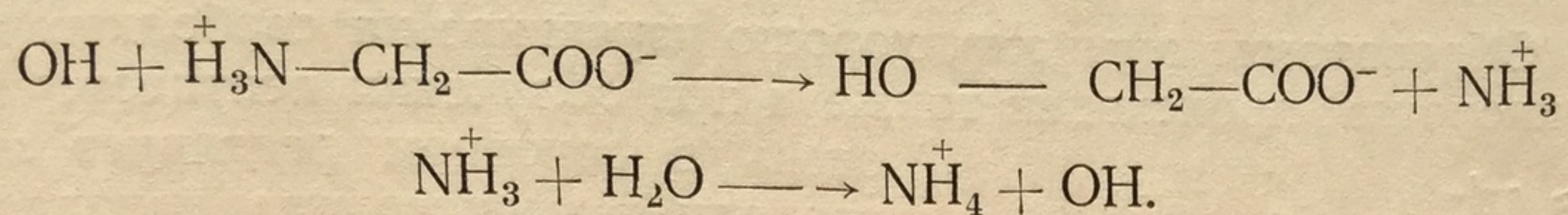
Увеличение ионного выхода аммиака с повышением концентрации облучаемой аминокислоты было особенно отчетливо показано [32] при облучении *l*-серина, обладающего хорошей растворимостью (рис. 14).

Кривая, изображенная на рис. 14, приобретает тенденцию к выравниванию только при насыщении раствора.

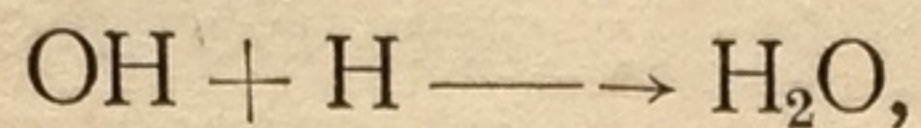
При облучении гликокола и серина ионный выход значительно увеличивается, а это ранее было известно только для реак-



ций полимеризации, имеющих цепной характер. Возрастание высокого ионного выхода при увеличении концентрации растворенного вещества заставляет предположить наличие следующей цепной реакции:



В разбавленных растворах более вероятна реакция рекомбинации радикалов:



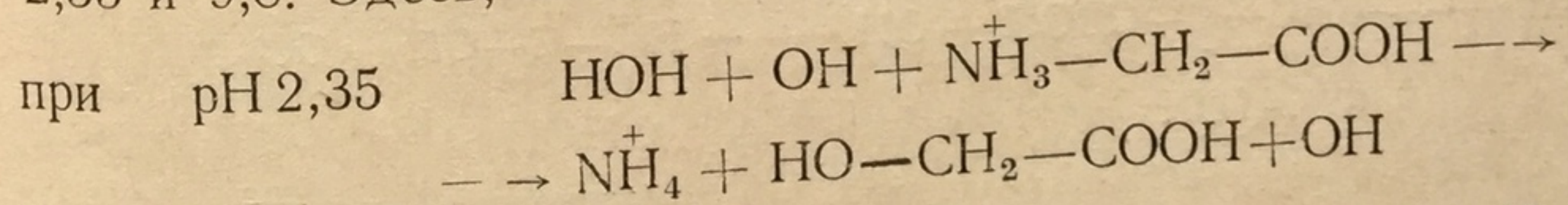
приводящая к обрыву цепи. При возрастании же концентрации молекул гликокола вероятность цепной реакции увеличивается и наблюдается повышение ионного выхода.

Выход аммиака не зависит от наличия кислорода в облучаемом растворе. Как известно, присутствие кислорода способствует образованию перекисей. Независимость выхода аммиака от присутствия кислорода свидетельствует о непосредственном взаимодействии аминокислот со свободными радикалами. На это же указывают и исследования по дезаминированию гликокола под действием  $\alpha$ -излучений.

Можно было ожидать, что под влиянием  $\alpha$ -излучения перекись водорода, образующаяся в результате большой плотности ионизации, будет участвовать в реакции. Однако контрольные опыты с перекисью водорода показали, что на долю дезаминирования, происходящего под влиянием перекиси водорода, приходится только 7—12% от всего дезаминирования, наблюдаемого при облучении. Этим еще раз подчеркивается, что основной реакцией, обуславливающей выход  $\text{NH}_3$ , будет непосредственное взаимодействие образующихся радикалов гидроксила и водорода с аминокислотой.

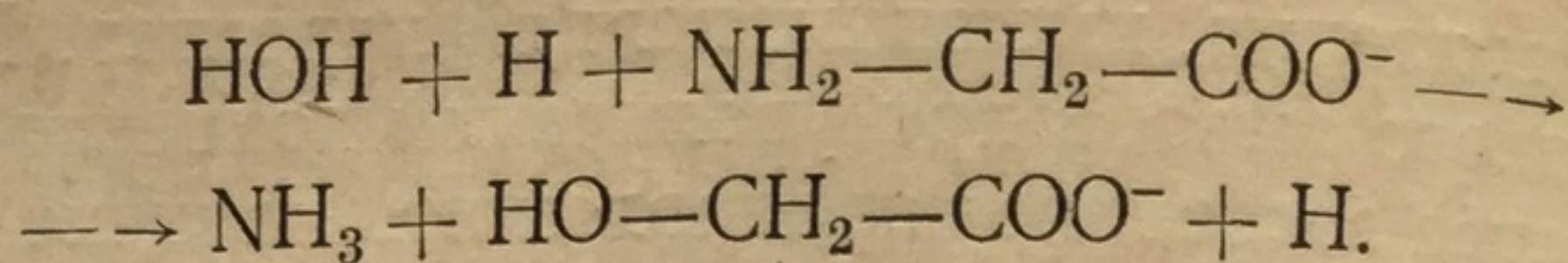
Выделяющийся аммиак может образоваться как при взаимодействии аминокислоты с радикалом гидроксила, так и с атомом водорода. Об этом свидетельствуют данные об образовании аммиака из гликокола при различном pH. Кривая выхода аммиака представлена на рис. 15 [33].

Из рисунка видно, что молекула гликокола наиболее устойчива в изоэлектрической точке (pH 6,97). При смещении pH в кислую и щелочную стороны, т. е. при увеличении в растворе катионов  $\text{NH}_3^+ - \text{CH}_2 - \text{COOH}$  или анионов  $\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$ , заметно увеличивается выход аммиака, достигая максимума при pH 2,35 и 9,8. Здесь, по-видимому, происходят следующие реакции:





при pH 9,8



Образование аммиака, хорошо изученное на свободных аминокислотах, происходит также и при облучении пептидов, но и

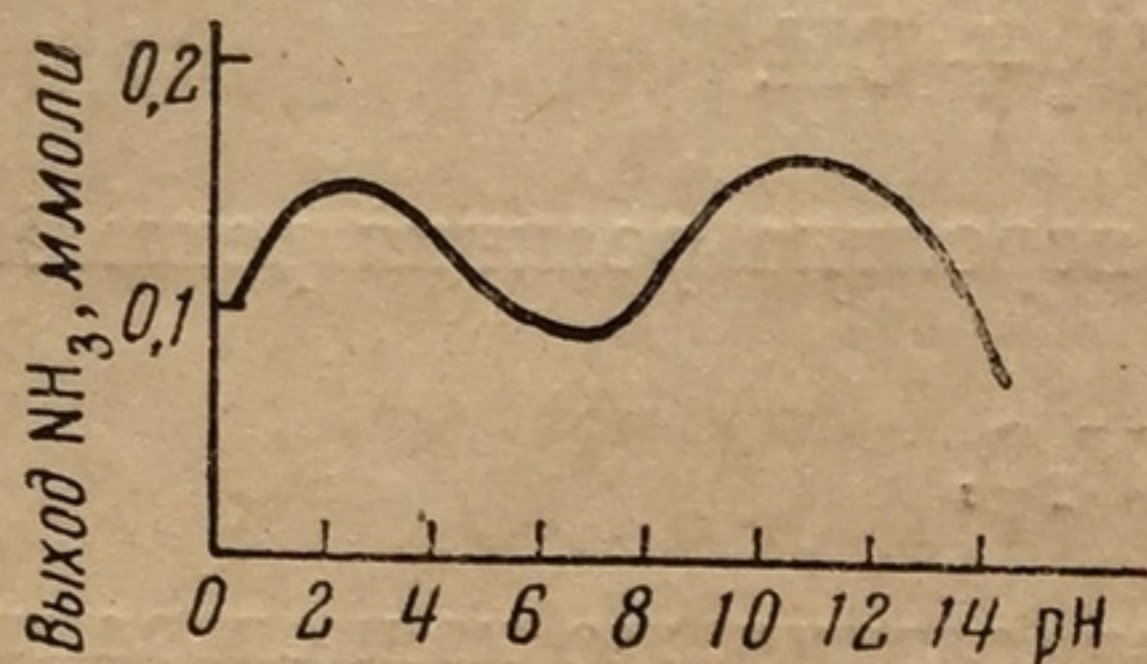
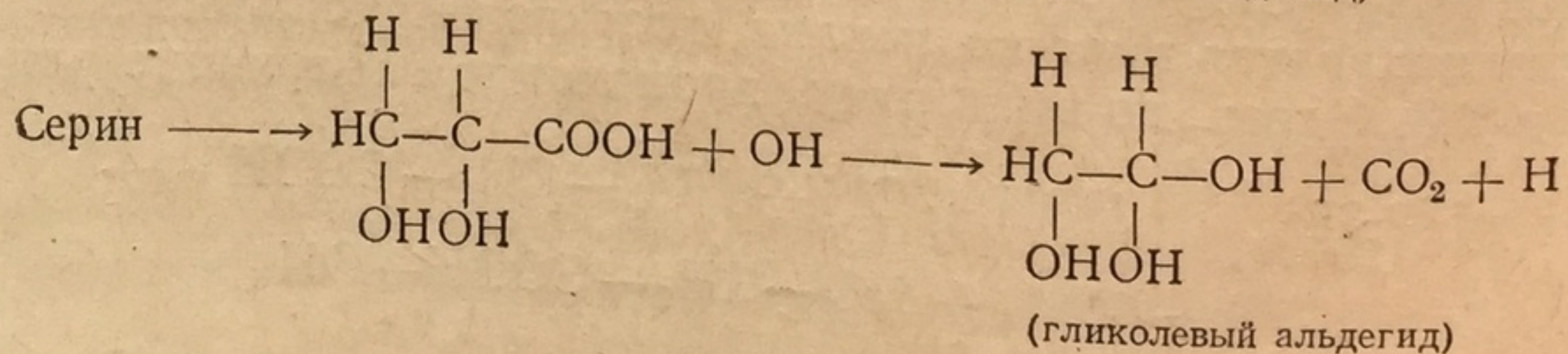
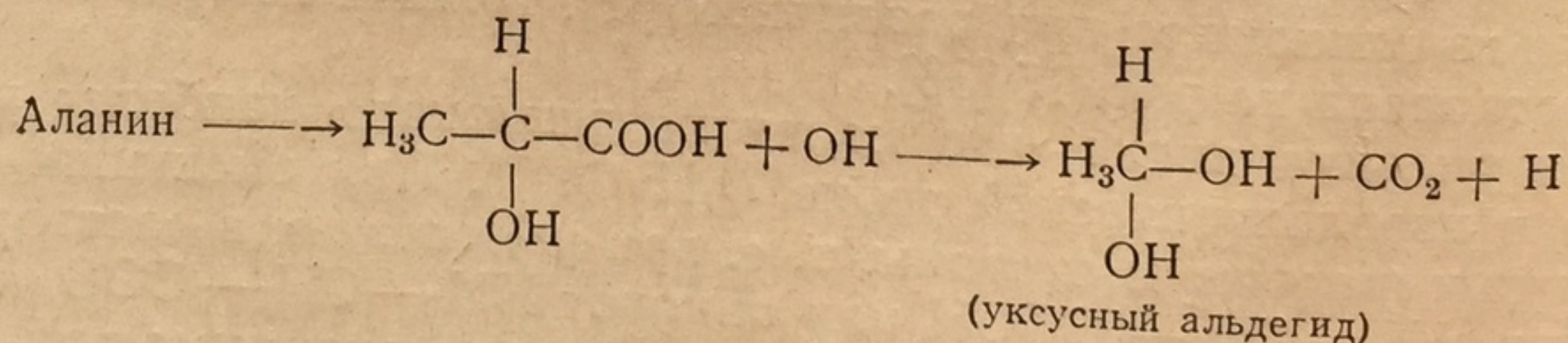
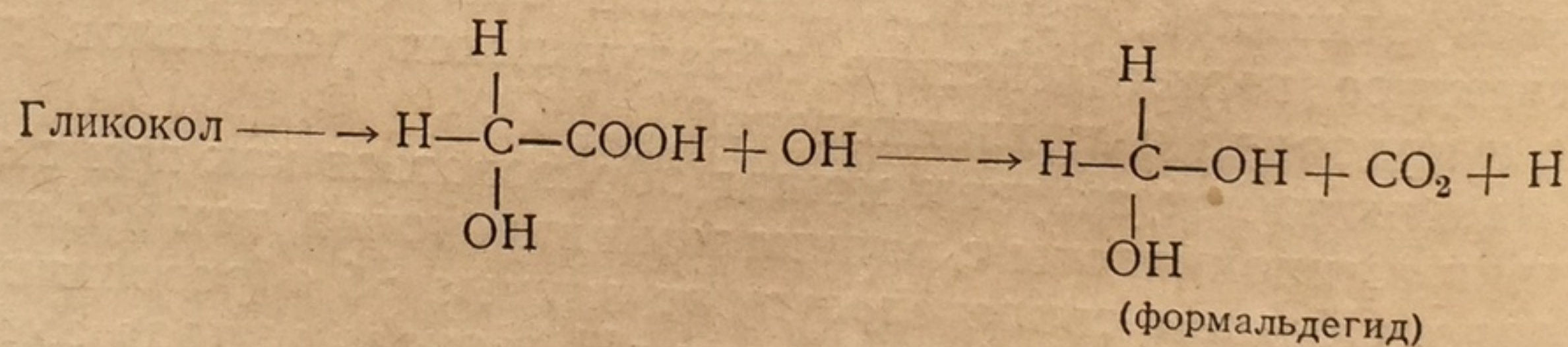


Рис. 15. Зависимость выхода аммиака от pH среды (доза облучения 50 000 p)

здесь в основном реагирует лишь свободная аминогруппа, находящаяся в  $\alpha$ -положении; в  $\beta$ -положении дезаминирование идет значительно хуже. Если с этих позиций перейти к макромолекуле белка, в которой количество свободных  $\alpha$ -аминогрупп невелико и основное количество аминогрупп представлено  $\epsilon$  и  $\gamma$ -аминогруппами лизина, то при облучении нативного высокомолекулярного белка не приходится ожидать значительного образования  $\text{NH}_3$ . Достаточно устойчивы к облучению и гуанидиновые группы аргинина.

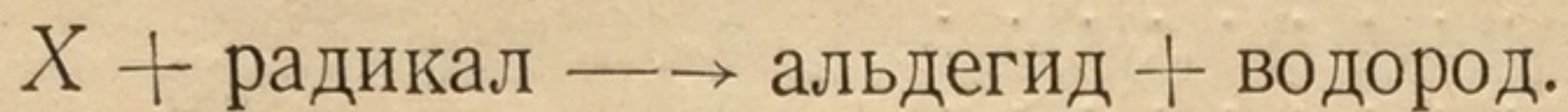
Действительно, при облучении свободного аргинина аммиака не образовалось больше, чем при облучении моноаминокарбоновых кислот, что указывает на прочность гуанидиновой группы. Облучение чистого гуанидина рентгеновыми лучами при дозе 166 000 p не привело к образованию даже следов аммиака [31].

Образующиеся при дезаминировании оксикислоты претерпевают дальнейшее окислительное декарбоксилирование с образованием соответствующих альдегидов:





Действительно, при облучении гликокола, аланина и серина наблюдалось образование формальдегида, уксусного альдегида и гликолевого альдегида и выделение водорода. Зависимость выхода водорода от облучения выражается S-образной кривой (рис. 16), что свидетельствует о его образовании за счет ступенчатой реакции и соответствует уравнениям:



Выход карбонильных соединений при облучении водных растворов различных аминокислот представлен в табл. 13 [34]. Карбонильные соединения определялись по микрометоду Лаппин и Кларка [35].

Детальные исследования радиолитического распада глицина и аланина в водных растворах [36—38] позволили в случае глицина обнаружить глиоксальную, уксусную и муравьиную кислоты, формальдегид, метиламин, аммиак, двуокись углерода и водород. Продукты распада аланина представлены на следующей схеме.

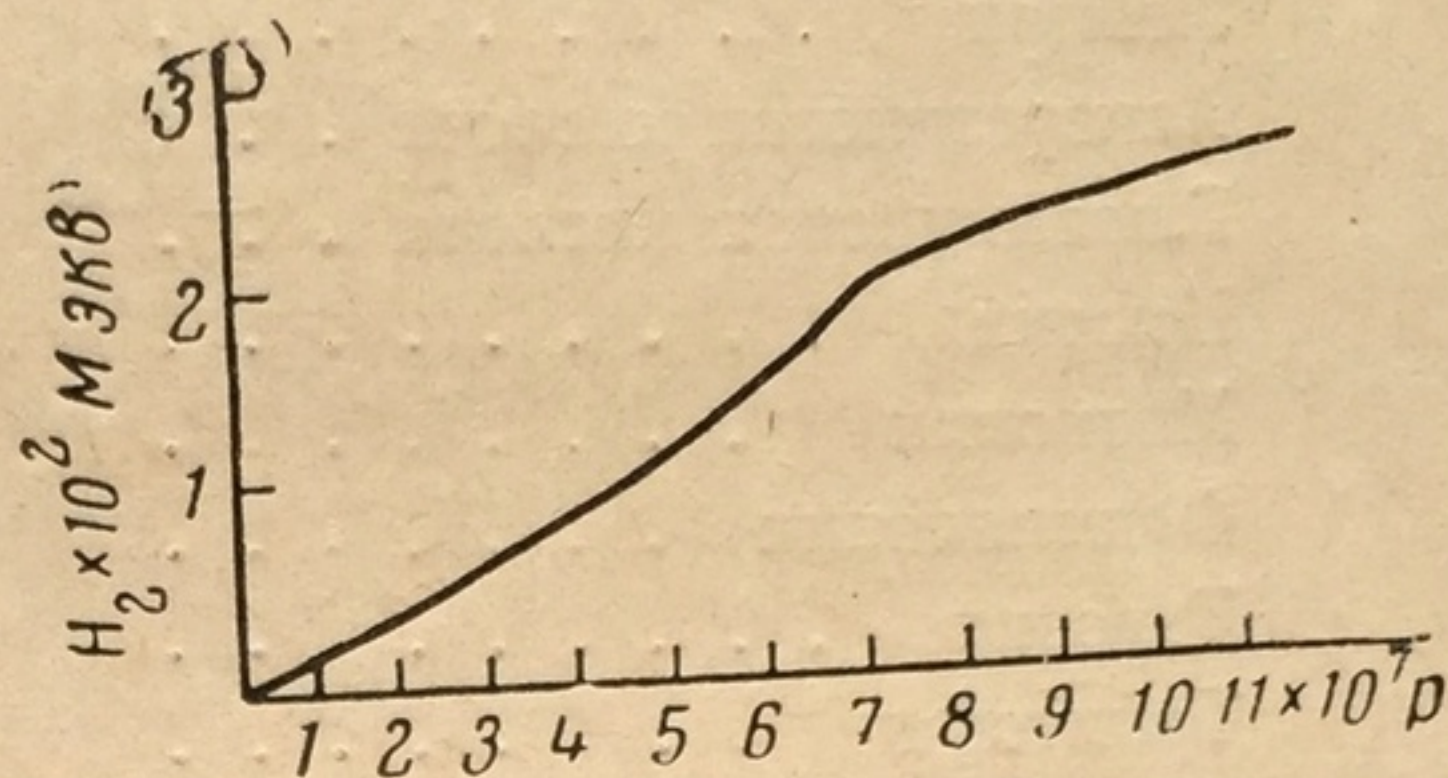


Рис. 16. Выход водорода в зависимости от дозы облучения водных растворов глицина



При облучении глицина  $\alpha$ -лучами и ускоренными ионами гелия с энергией в 35 Мэв наблюдалось образование янтарной, аспарагиновой и диаминоянтарной кислот, изолированных при хроматографическом разделении продуктов радиолитического распада [39—41]. Образование этих кислот идет, по-видимому, через промежуточное образование радикалов  $\text{CH}_2\text{—COOH}$  и  $\text{NH}_2\text{—CH—COOH}$ .

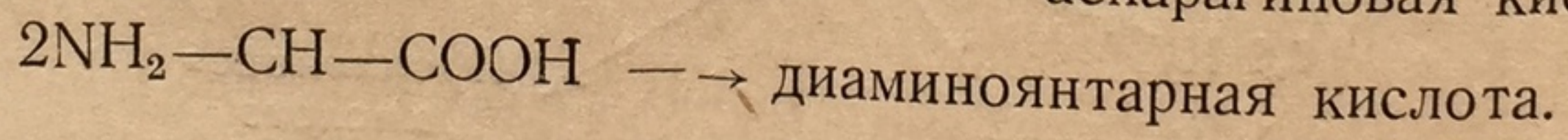
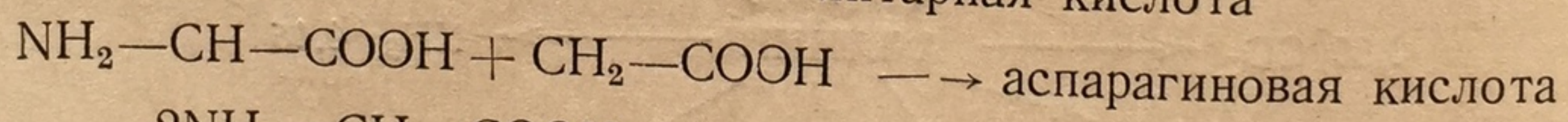
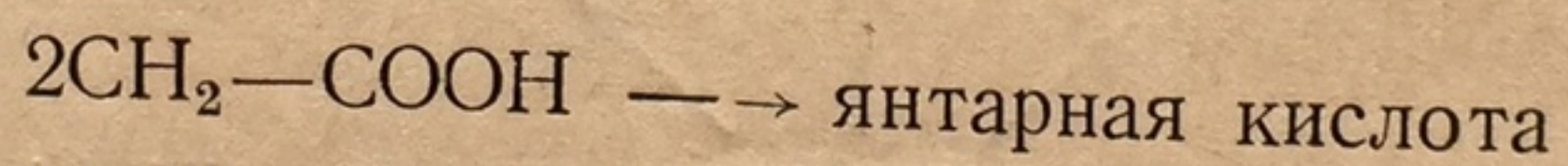


Таблица 13

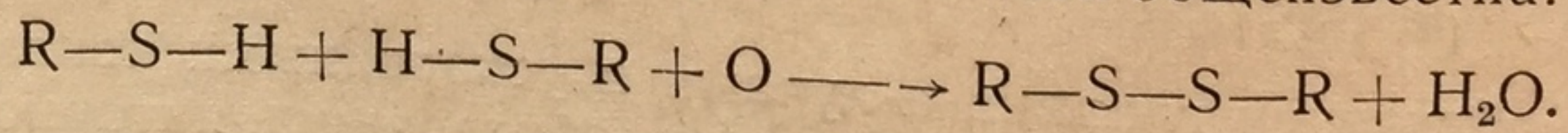
## Выход карбонильных соединений при облучении водных растворов аминокислот [35]

Аминокислота	Молярность, М	Доза облучения, р	
		5·10 <sup>6</sup>	20·10 <sup>6</sup>
Глицин . . . . .	1	0,97	—
Аланин . . . . .	0,1	0,058	0,035
Серин . . . . .	0,1	0,20	0,14
Валин . . . . .	0,1	0,039	0,013
Лейцин . . . . .	0,1	0,00	0,0021
Аспарагиновая кислота . . .	0,08	0,025	0,062
Глютаминовая кислота . . .	0,1	0,041	0,072
Цистин . . . . .	0,0004	0,0071	0,0011
Метионин . . . . .	0,1	0,19	0,083
Фенилаланин . . . . .	0,01	0,046	0,078
Тирозин . . . . .	0,004	0,15	—
Триптофан . . . . .	0,0009	0,019	0,019
Гистидин . . . . .	0,1	0,37	0,19
Аргинин . . . . .	0,1	0,089	0,05
Лизин HCl . . . . .	0,09	0,00	0,00
Пролин . . . . .	0,1	0,00	0,004
Оксипролин . . . . .	0,1	0,58	0,21
Треонин . . . . .	0,1	0,64	0,78

При достаточной плотности ионизации возникают реакции рекомбинации этих радикалов согласно уравнениям:



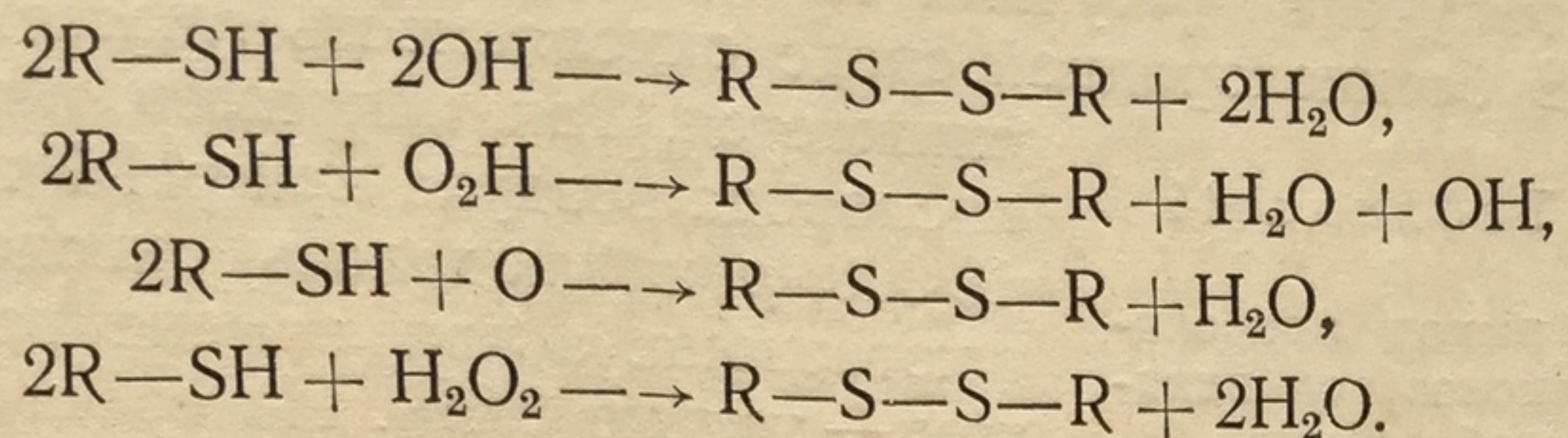
Весьма активными группами в белковой молекуле являются сульфгидрильные группы цистеина. Легкая окисляемость этих групп с образованием дисульфидных связей общеизвестна:



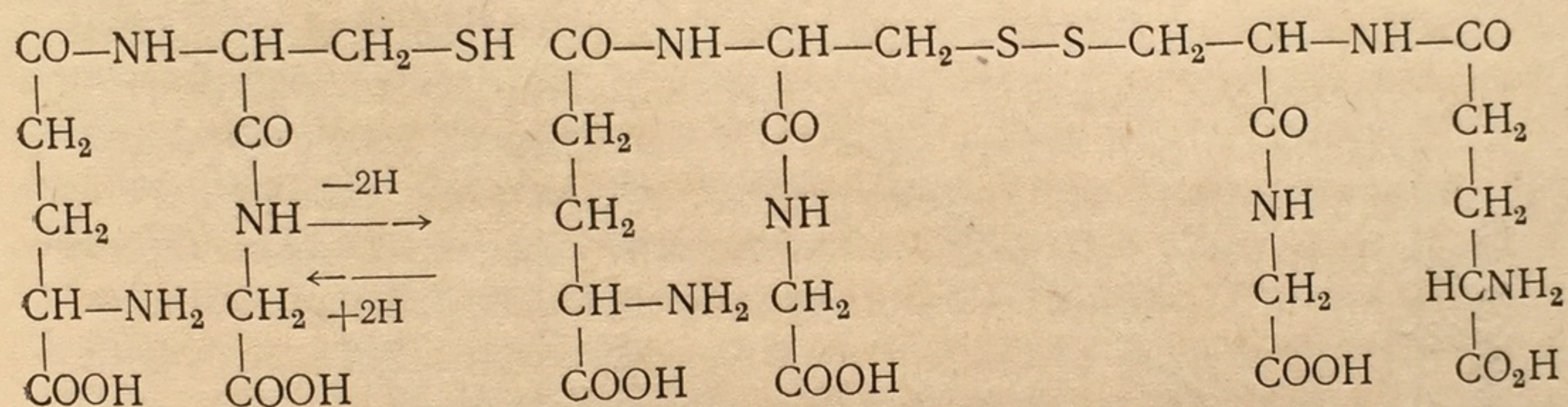
Так как это окисление медленно идет даже за счет молекулярного кислорода, то тем более следует ожидать, что оно будет идти при воздействии проникающих излучений. При действии ионизирующей радиации на растворы, содержащие соединения со сво-



бодными сульфгидрильными группами, возможны следующие реакции:



При экспериментальной проверке была показана большая чувствительность различных тиолов (2,3-димеркаптопропанола, пропан-1,3-дитиола, глутатиона) к ионизирующей радиации [42]. Приведем результаты, полученные с глутатионом. Как известно, трипептид, состоящий из глутаминовой кислоты, цистеина и гликокола — глутатион, широко распространен в печени, надпочечниках, эритроцитах и в других тканях. Он выполняет важную регулируемую функцию в поддержании определенного количества свободных сульфгидрильных групп в различных биологически активных белках. Как и любой тиол, глутатион может быть в окисленной и восстановленной форме:



При облучении  $\gamma$ -лучами глутатиона, растворенного в трижды перегнанной воде, в запаянных парафинированных сосудах при  $0^\circ$  и pH 6,85 уже при дозах 200 p наблюдается заметное окисление сульфгидрильных групп, возрастающее по мере увеличения дозы.

Зависимость окисления глутатиона от дозы  $\gamma$ -лучей представлена на рис. 17

Окисление тиолов имеет ионный выход, равный примерно 2 (табл. 14).

Окисление глутатиона резко усиливается при сдвиге pH в щелочную сторону (рис. 18), причем ионный выход также значительно возрастает (табл. 15).

Существенную роль в окислении глутатиона под влиянием проникающих излучений играет образующаяся при этом перекись водорода. В присутствии каталазы окисление глутатиона уменьшается. Так, например, при pH 7 и облучении дозами в 5000 p 20% глутатиона было в окисленной форме, а в тех же условиях, но при добавлении каталазы — только 15,7%. Как уже указыва-



лось, перекись водорода образуется при рентгеновском облучении и облучении  $\gamma$ -лучами только в присутствии кислорода воздуха. В бескислородной среде окисляемость глутатиона резко

Таблица 14

Ионный выход при окислении тиолов под влиянием облучения

Доза, $p$	Ионный выход
270	1,49
540	2,15
610	2,23
1060	2,12
1350	2,15

снижается. Так, например, в присутствии кислорода воздуха при pH 7 и облучении 10 000  $p$  наблюдалось окисление 25,9% глутатиона, а при замене воздуха азотом — только 8,6%. Интересно, что окисленный глутатион (т. е. S—S-форма) при облучении не образовывал даже следов восстановленной формы. Эта необратимость процесса может иметь особое значение для инактивации биологически важных сульфгидрильных соединений. Особенно наглядно чувствительность к ионизирующей радиации была показана для тех белков, ферментативная активность которых связана с наличием свободных

сульфгидрильных групп. Облучение таких белков вело к инактивации их ферментативных свойств.

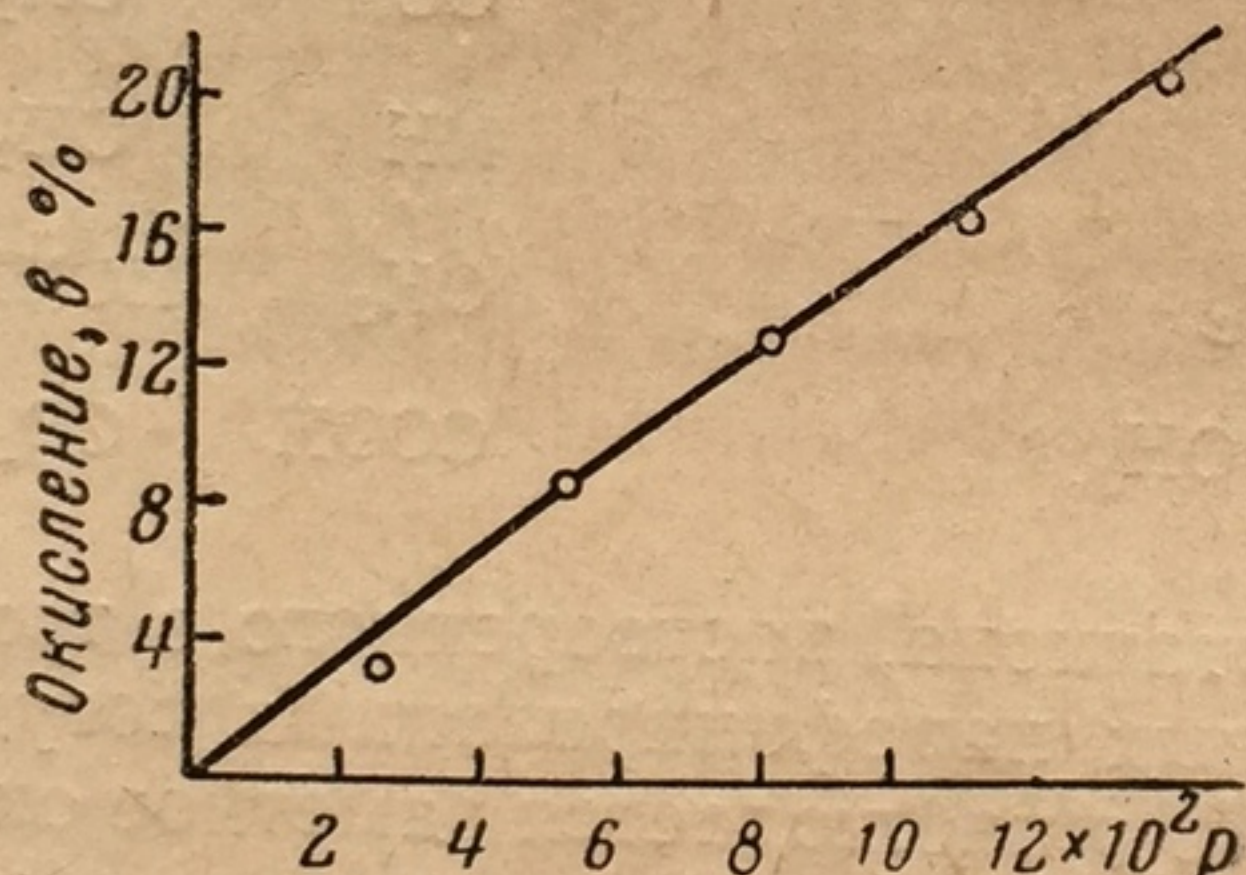


Рис. 17. Кривая окисления глутатиона при облучении  $\gamma$ -лучами, при pH 6,85

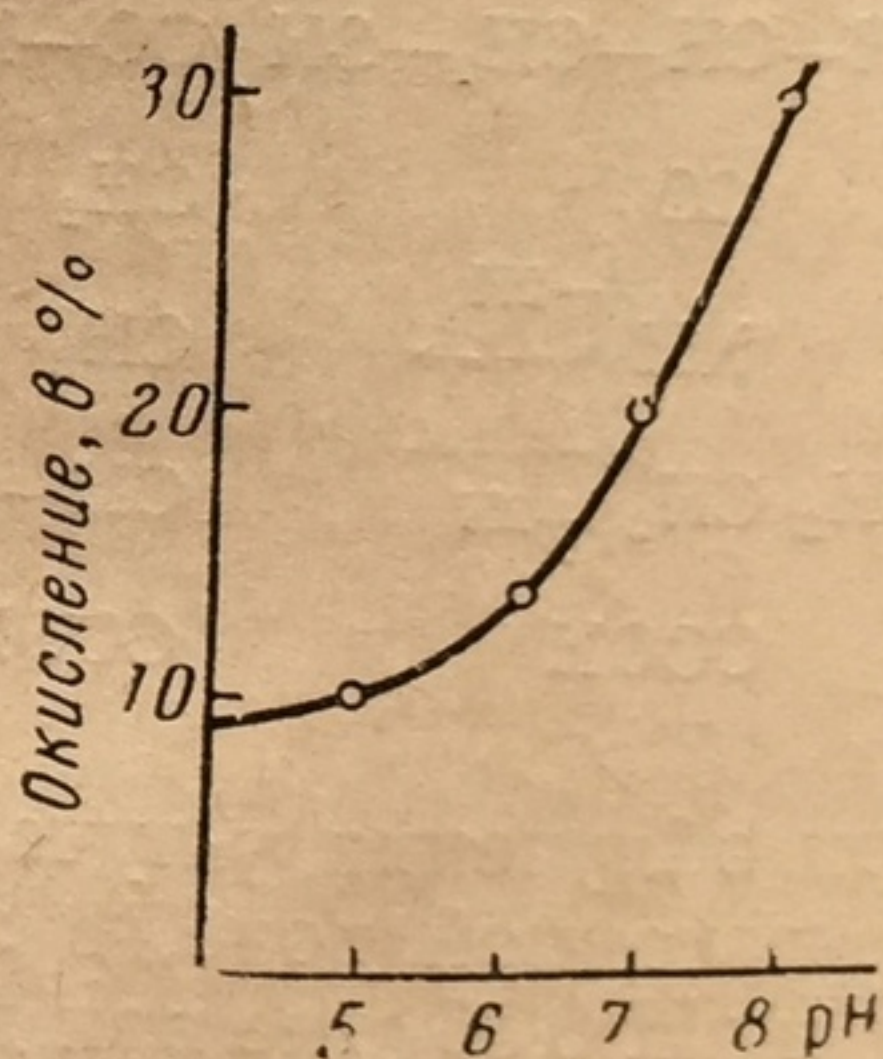


Рис. 18. Влияние pH на окисление глутатиона рентгеновыми лучами

Легкая окисляемость тиоловых групп была продемонстрирована в опытах с облучением рентгеновыми,  $\gamma$ - и  $\alpha$ -лучами водных растворов глутатиона, 1,3-дителиолпропана и 2,3-дителиопропанола. Во всех случаях ионный выход был более двух. В присутствии каталазы окисление тиоловых групп проходило на 85% по сравнению с контрольными растворами, а в бескислородных условиях — всего лишь на 33%. Из этих данных можно было определить долю участия различных окисляющих агентов, образующихся в облучаемом растворе в окислении тиоловых групп. Если облучение идет в водной среде, насыщенной кислородом, то значения

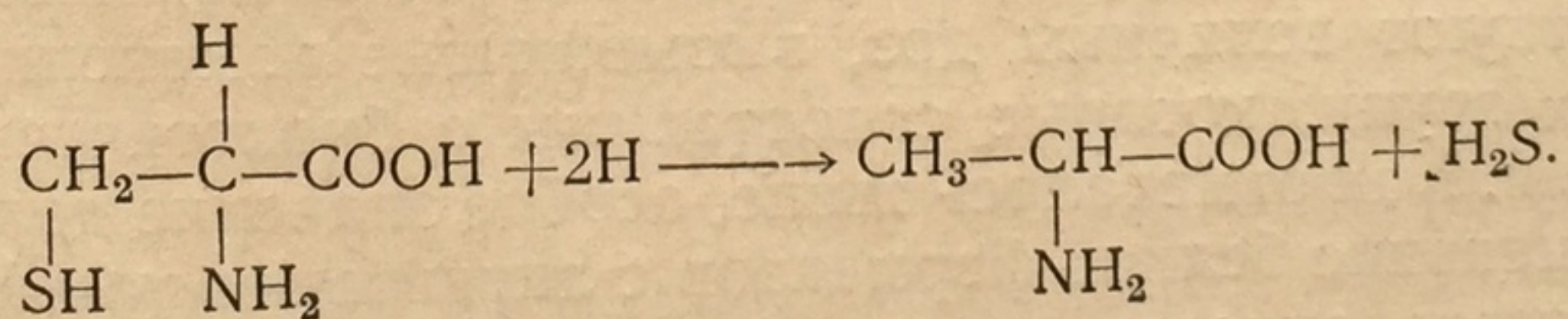


для различных окислителей могут быть выражены следующими цифрами:  $\text{H}_2\text{O}_2$ —24%;  $\text{O}_2\text{H}$ —43%;  $\text{OH}$ —23% [43].

Кислород принимает непосредственное участие в окислении SH-групп. Как показали Павловская и Пасынский [44], при облучении растворов яичного альбумина в вакууме или в присутствии азота не удается наблюдать окисления SH-групп даже при высоких дозах, в то время как в присутствии кислорода окисление идет с ионным выходом, равным единице.

При больших дозах ионизирующей радиации начинает проявляться и вторая реакция — отщепление  $\text{H}_2\text{S}$ . Так, например, при облучении растворов солянокислого цистеина рентгеновыми лучами ( $\text{Cu}=5,2$  мм,  $\lambda=0,056$  Å) в дозах, превышающих 10 000 p, удается обнаружить выделение  $\text{H}_2\text{S}$ , причем, как это видно из рис. 19, образование  $\text{H}_2\text{S}$  прямо пропорционально дозе облучения [45].

Количество выделяющегося сероводорода не зависит от присутствия кислорода. В растворе, насыщенном воздухом, и в условиях вакуума при одних и тех же дозах облучения образовывалось одинаковое количество сероводорода (в пределах ошибки опыта), что свидетельствует о том, что выделение сероводорода не является следствием окислительной реакции. Это же подтверждают и другие опыты, в которых пытались отщепить  $\text{H}_2\text{S}$  путем добавления к растворам цистеина перекиси водорода. Если к опытной смеси добавлять такое количество перекиси водорода, которое может максимально образоваться при облучении, то выделялась только пятая часть сероводорода, образующегося при облучении. По-видимому, в реакции принимают участие свободные атомы водорода:



Необходимость участия в реакции двух атомов водорода значительно понижает вероятность этой реакции по сравнению с реакцией дезаминирования. И действительно, в то время как максимальный выход аммиака при дезаминировании достигал трех, наибольший ионный выход сероводорода равнялся 0,3, т. е. был в десять раз меньшим. С повышением концентрации облучаемого цистеина выход  $\text{H}_2\text{S}$  возрастает, выравниваясь только при высоких концентрациях цистеина. Отщепление  $\text{H}_2\text{S}$  под влиянием

Таблица 15

Зависимость ионного выхода от pH при окислении глутатиона

pH	Ионный выход
4,01	1,33
6,01	1,61
8,02	4,37



проникающих радиаций имеет резко выраженный максимум при рН 6 (рис. 20).

Эта реакция также отличается от реакции дезаминирования, так как последняя при рН 6 имеет минимум и обнаруживает два максимума — в кислой и щелочной областях.

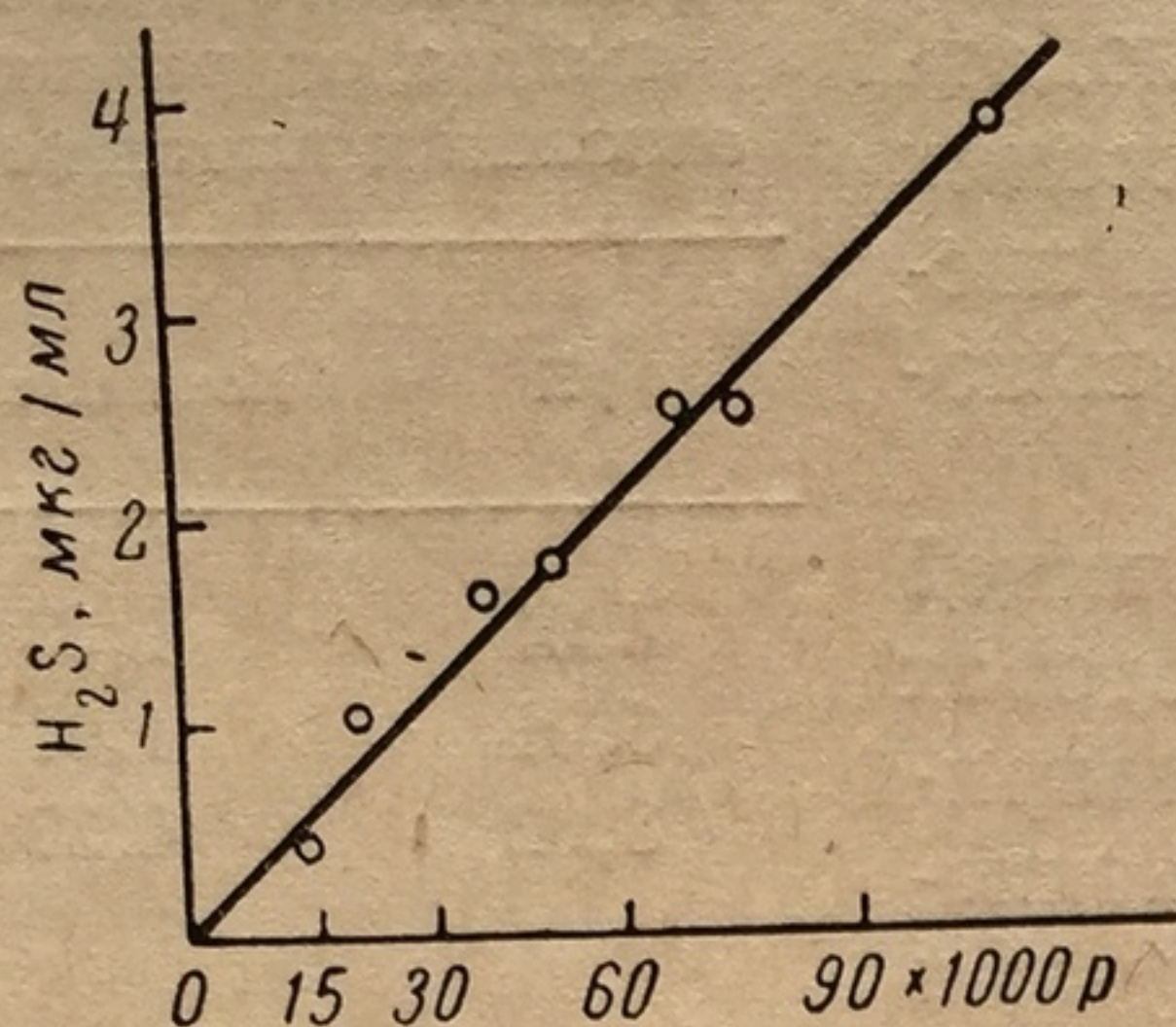


Рис. 19. Зависимость образования сероводорода из цистеина от дозы облучения рентгеновыми лучами (концентрация цистеин-гидрохлорида 7500 мкг/мл; рН 2)

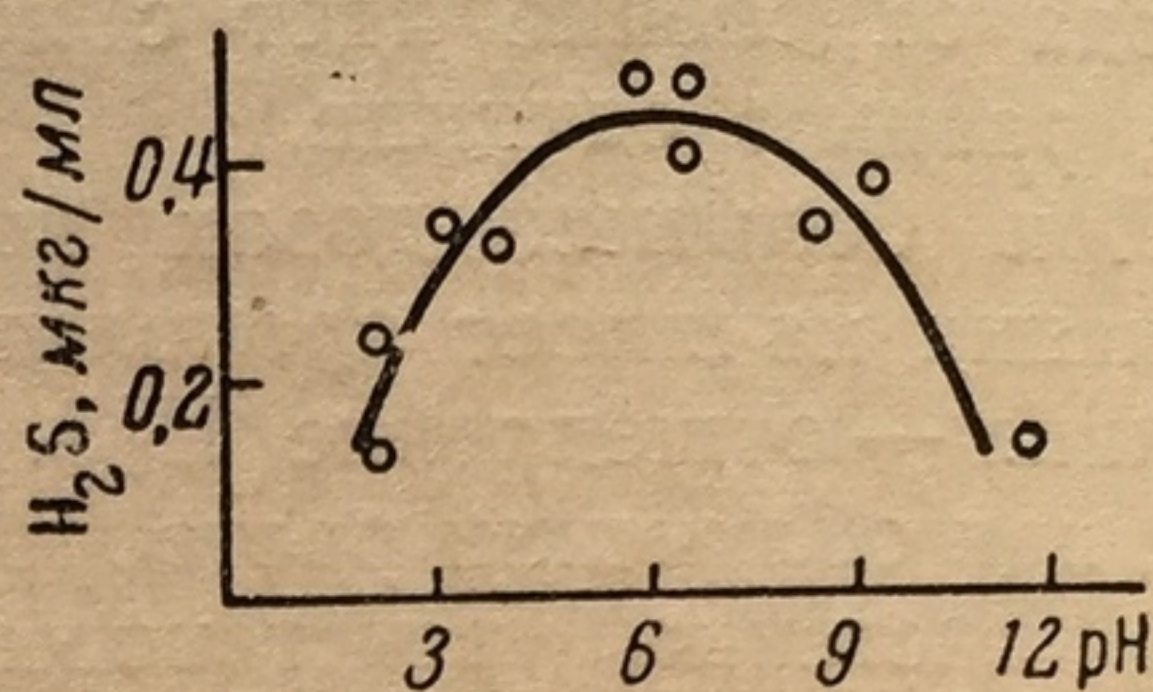


Рис. 20. Зависимость образования сероводорода от рН (концентрация цистеин-гидрохлорида 5000 мкг/мл; доза облучения 9500 p)

Рассмотренные примеры показывают, что сульфгидрильные группы белка являются весьма подвижными и легко изменяются под влиянием проникающих ионизирующих излучений. Х. С. Кош-тоянц [46] отметил, что искусственное выключение сульфгидрильных групп белка приводит к резкому изменению его функциональных свойств. Принимая во внимание значительную лабильность сульфгидрильных групп белка, значимость для жизненных процессов и легкую изменяемость под влиянием ионизирующих излучений, можно предположить, что их окисление или отщепление играет большую роль в объяснении механизма биологического действия ионизирующей радиации. Об этом, казалось бы, свидетельствуют величины доз, вызывающие изменения сульфгидрильных групп, которые сопоставимы с биологически активными дозами. Как отмечалось выше, особое значение должно приобрести изменение белков-ферментов с активными сульфгидрильными группами, окисление которых приводит к инактивации фермента.

Даже частичная инактивация фермента, содержащего сульфгидрильные группы, может вызвать глубокие нарушения в течении обмена веществ. Нельзя забывать, что в живом организме нормальное течение обмена веществ обусловлено строгой координацией действия многих сотен ферментов. Выпадение из этой цепи даже одного звена может привести к обрыву последовательно идущих реакций обмена или к изменению направления прев-



ращений. В обоих случаях появляются аномальные метаболиты, которые влияют на активность других ферментов, и углубляется начавшееся нарушение нормального хода обмена веществ. Все сказанное заставляет придавать особое значение процессу окисления сульфгидрильных групп белка под влиянием ионизирующей радиации.

Однако нельзя не подчеркнуть, что большинство исследований по инаktivации сульфгидрильных групп было проведено в условиях, далеких от физиологических. Действительно неустойчивость сульфгидрильных групп отмечалась только при облучении очень разбавленных растворов чистых кристаллических ферментов, приготовленных на специально тщательно очищенной воде.

Добавление к такому раствору незначительных примесей других органических веществ резко снижало действие облучения на сульфгидрильные группы. Например, фермент уреазы, активность которого связана с наличием сульфгидрильных групп, при облучении в чистой, трижды перегнанной воде снижал свою активность на 24% при дозе 100 р. Однако присутствие в растворе  $10^{-2}$  М гликокола полностью снимало наблюдаемый эффект, и даже такие малые концентрации гликокола, как  $10^{-6}$  М, снижали инаktivацию с 24 до 9%. Присутствие других веществ, таких, как, например, глюкоза и яичный альбумин, также оказывало защитное действие.

Несомненно, что в естественных условиях мы будем постоянно сталкиваться с возможностями защиты сульфгидрильных групп другими сопутствующими веществами. В отдельных случаях это может резко понизить воздействие радиации на сульфгидрильные группы белка. Однако полностью переносить результаты, наблюдаемые в гомогенных растворах, на процессы, происходящие в микрогетерогенных структурах живой плазмы, было бы также неправильным. Легкая поражаемость сульфгидрильных групп белка ионизирующей радиацией должна быть учтена при рассмотрении нарушений в обмене веществ, которые вызываются проникающими излучениями.

Несколько специфично ведет себя при действии ионизирующей радиации метионин [47]. Наряду с другими продуктами распада он дает еще меркаптаны, обуславливающие специфический запах. Появление меркаптанов отмечается уже при дозах в 500 000 р и прямолинейно возрастает с увеличением дозы [34]. Запах, образующийся при лучевой стерилизации пищевых продуктов, в значительной мере обязан своим происхождением этим меркаптанам, наряду с  $H_2S$  и некоторым карбонильным соединениям [47—50].

Имеются лишь весьма неполные и отрывочные данные о влиянии ионизирующих излучений на другие химические группировки белковой молекулы — на фенильный и оксифенильный радикалы, на индольное кольцо триптофана и имидазольное кольцо



гистидина. Мищенко [51] еще в 1927 г. показал, что при облучении водных растворов триптофана рентгеновыми лучами происходит окислительный распад пиррольного цикла. Можно предположить также, что под влиянием проникающих излучений происходит окисление фенильных и оксифенильных групп фенилаланина и тирозина с образованием ортохинонов.

Спектрофотометрическое исследование в ультрафиолетовой области, проведенное Хенохом и Лапинской, указывает на деструкцию циклических аминокислот под влиянием облучения  $\gamma$ -лучами кобальта [15].

При облучении разбавленных растворов этих аминокислот наблюдается изменение интенсивности поглощения в ультрафиолетовой части спектра (рис. 21, 22 и 23).

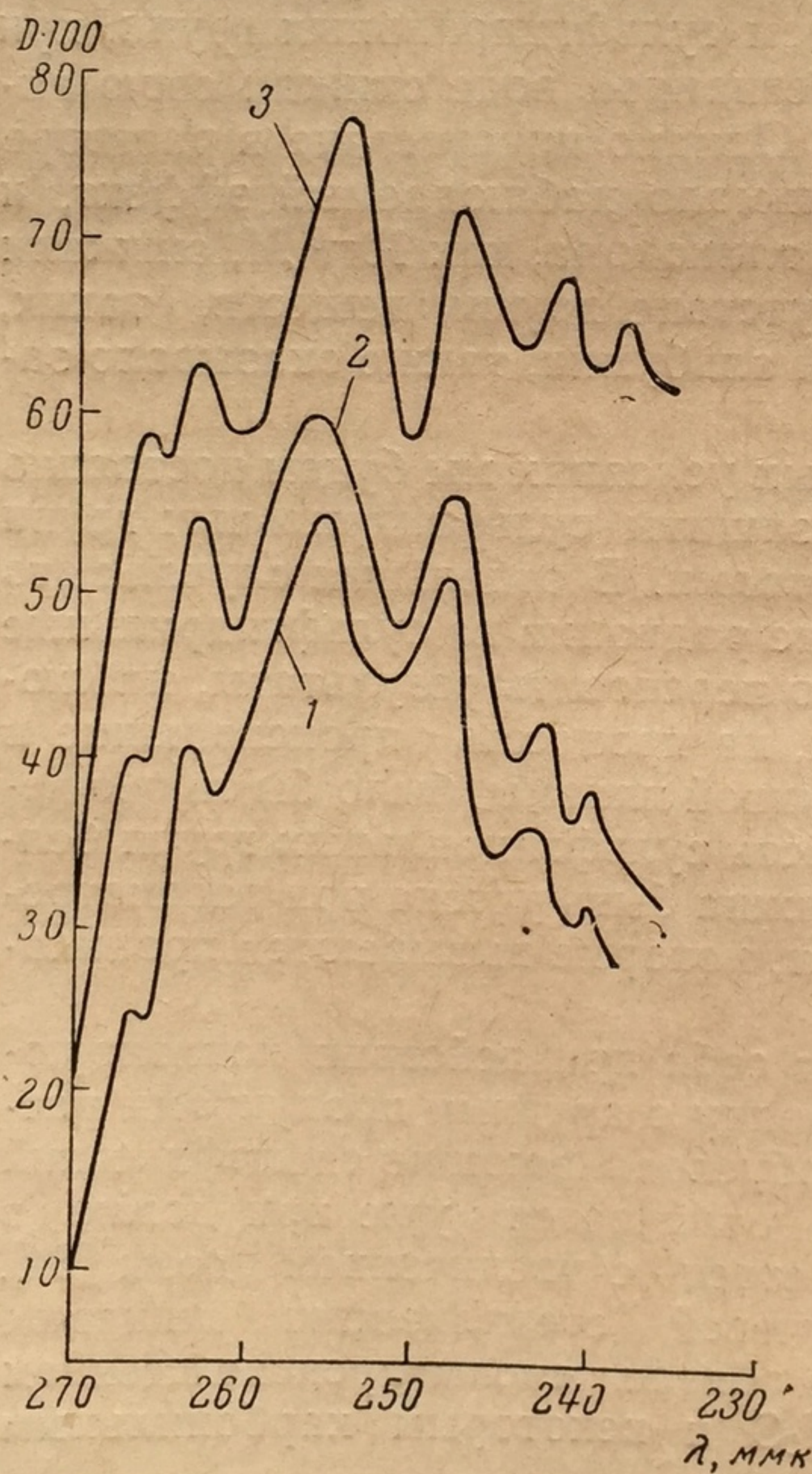


Рис. 21. Кривые адсорбции облученного фенилаланина ( $C=0,02\text{ M}$ )

1 — необлученный; 2 — облученный  $409 \cdot 10^3\text{ p}$ ; 3 — облученный  $909 \cdot 10^3\text{ p}$

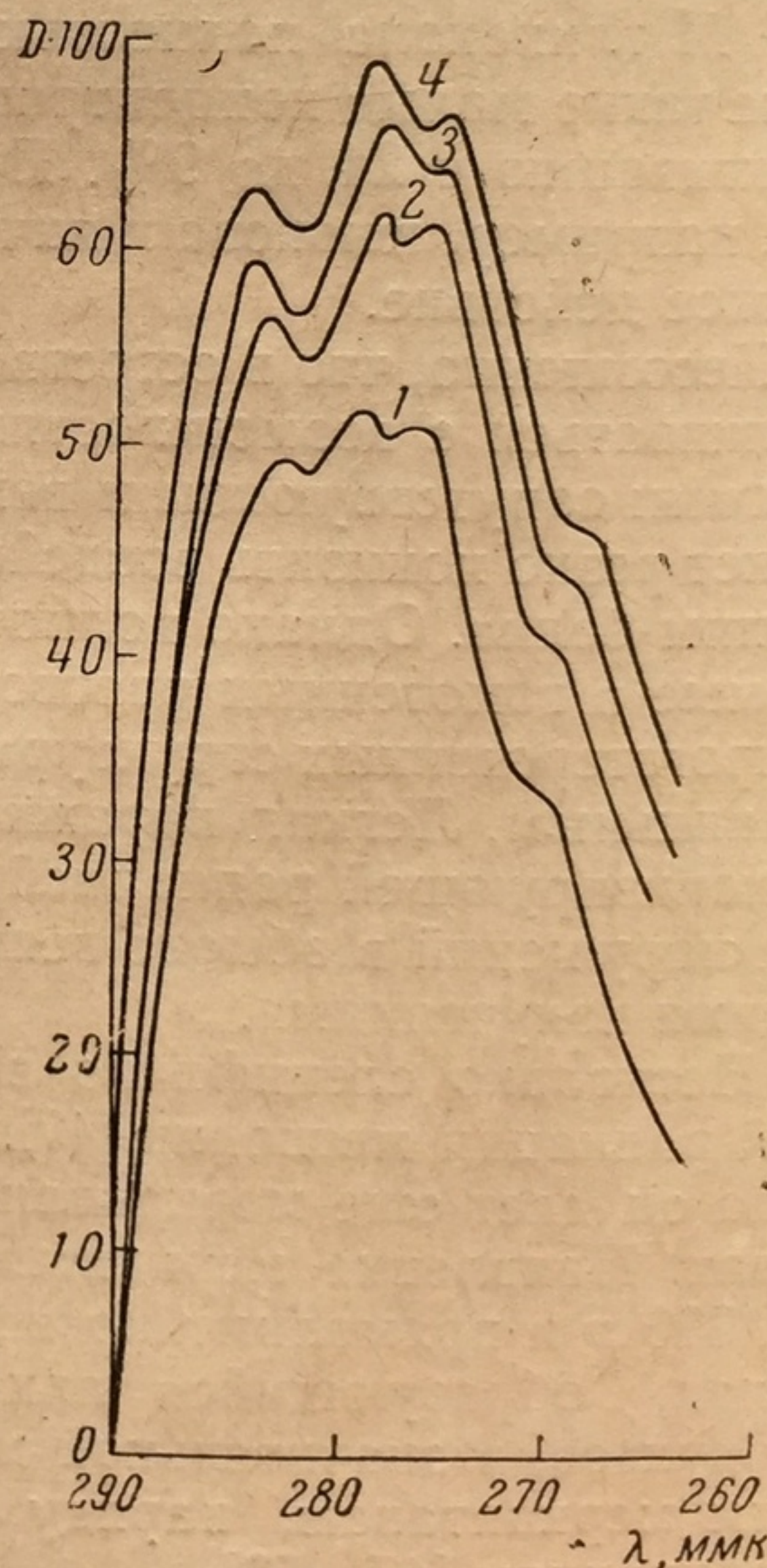


Рис. 22. Кривые адсорбции облученного тирозина ( $C=0,02\text{ M}$ )

1—необлученный; 2—облученный  $176 \cdot 10^3\text{ p}$ ; 3 — облученный  $404 \cdot 10^3\text{ p}$ ; 4 — облученный  $909 \cdot 10^3\text{ p}$



Как видно из приведенных кривых, при облучении фенилаланина и тирозина поглощение в ультрафиолетовой области возрастает, а при облучении триптофана — падает, что, по-видимому, следует объяснить тем, что образующиеся продукты распада имеют различный спектр поглощения.

Авторы облучали растворы чистого бензола теми же дозами и пришли к выводу, что под влиянием достаточных доз  $\gamma$ -излучений циклические аминокислоты не только подвергаются дезаминированию, а происходит изменение самого бензольного ядра этих аминокислот.

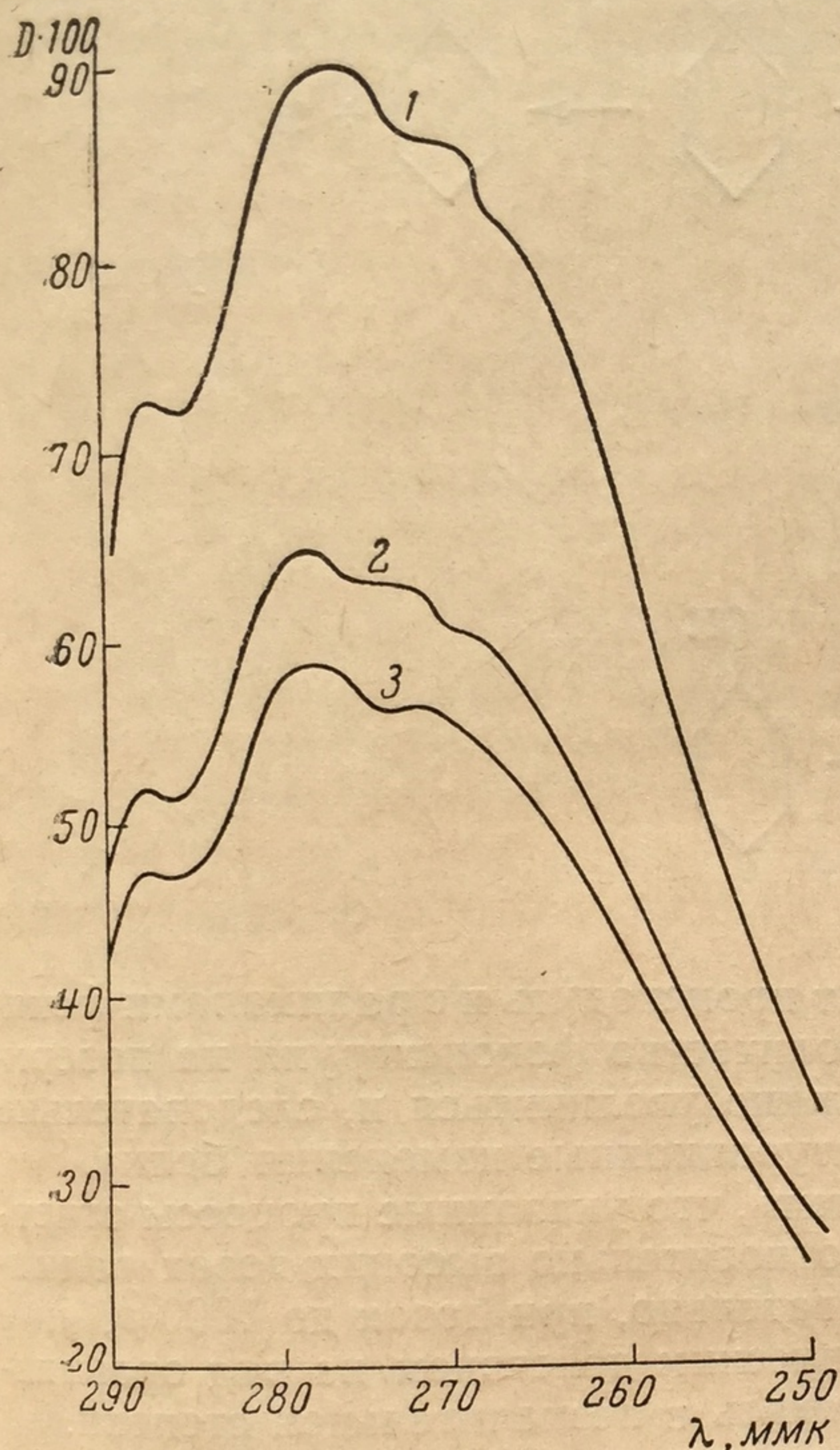


Рис. 23. Кривые адсорбции облученного триптофана ( $C = 0,0016 M$ ),  
1 — необлученный; 2 — облученный  $222 \cdot 10^3 p$ ;  
3 — облученный  $505 \cdot 10^3 p$

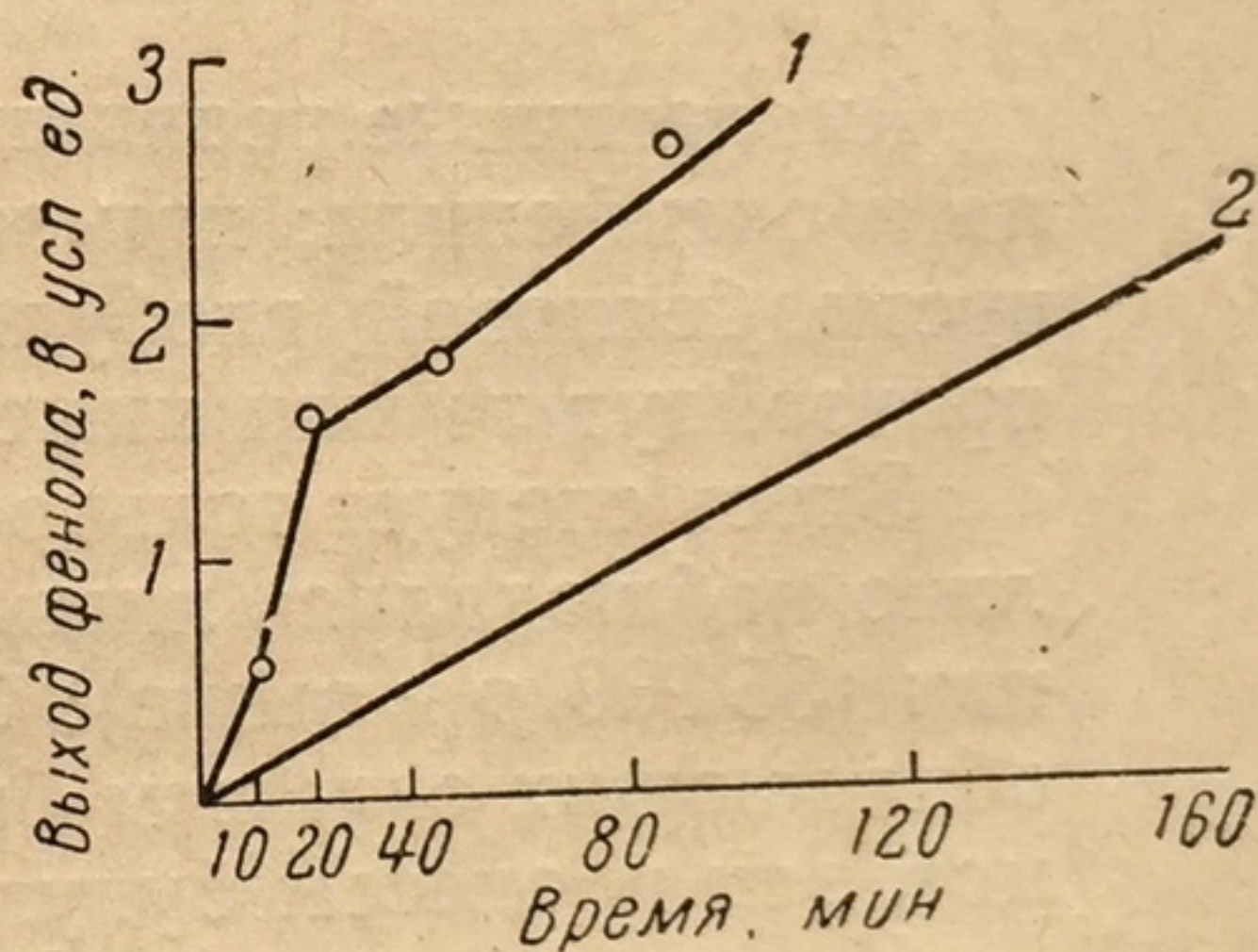
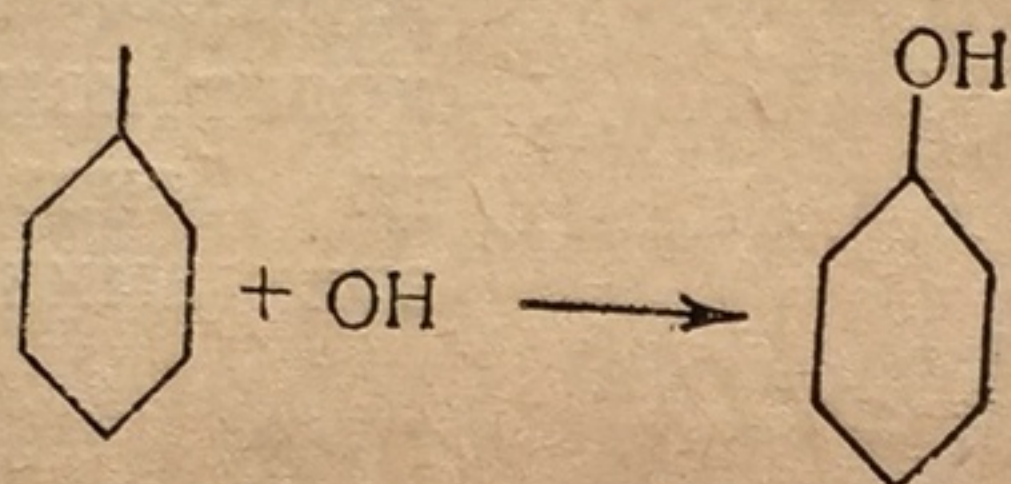
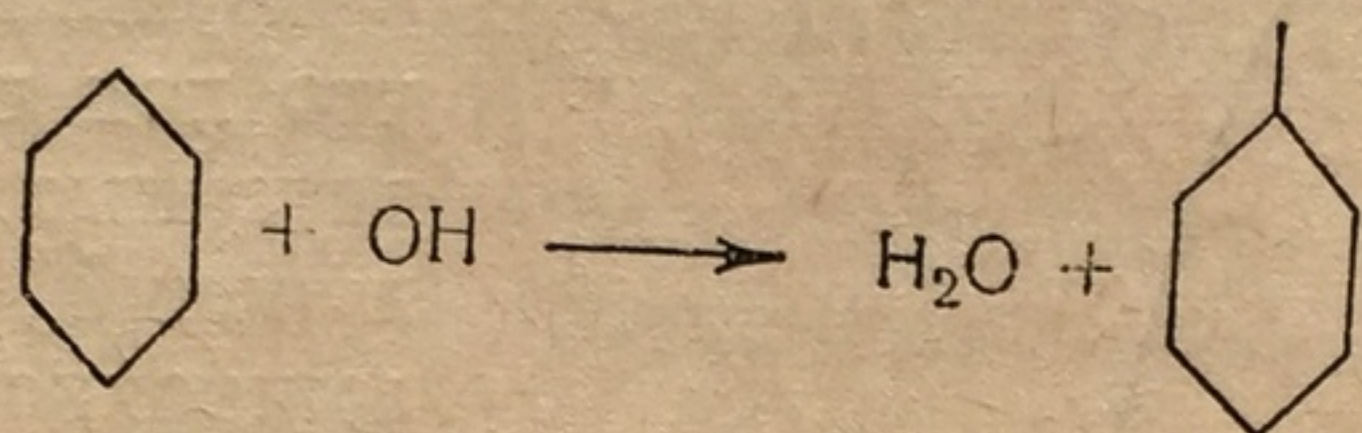
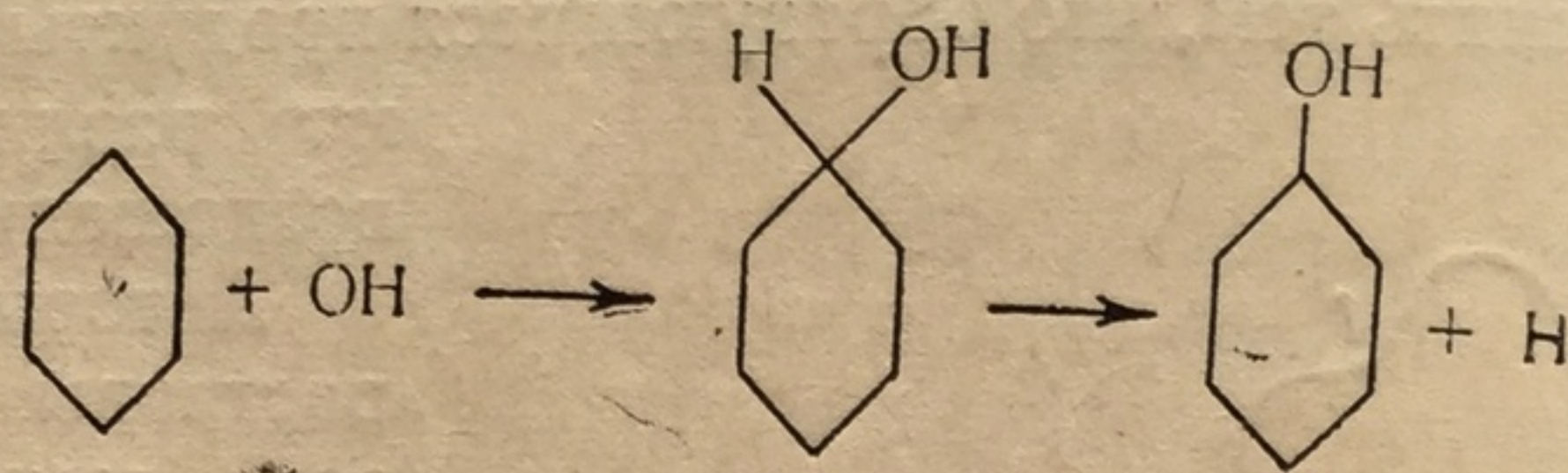


Рис. 24. Выход фенола при облучении растворов бензола (доза  $3500 p/мин$ )  
1 — в присутствии воздуха; 2 — в вакууме

Действительно, работы Штейна и Вейса [33] показали, что окисление бензола и бензойной кислоты происходит при облучении рентгеновыми лучами их водных растворов с образованием фенола, или соответственно салициловой кислоты. Одновременно наблюдалось выделение водорода и образование дифенила. Выход фенола при облучении бензола пропорционален интенсивности облучения (рис. 24), причем, как это характерно для всех реакций, идущих при участии свободных радикалов гидроксила, скорость окисления в присутствии кислорода воздуха увеличи-



вается более чем в два раза. Механизм реакции, по-видимому, таков:



Аналогичные реакции могут происходить и с радикалами фенила и оксифенила; при этом количество фенокси групп на поверхности белковой глобулы должно увеличиться и, следовательно произойдут те или иные денатурационные изменения белка.

Здесь следует только отметить, что указанные процессы отчетливо наблюдались лишь при относительно высоких дозах радиации (35 000 *r* и выше). Следовательно, при дозах до 1000 *r*, уже обладающих сильным биологическим действием на ряд организмов, эти процессы будут протекать в незначительной степени.

На основании приведенного выше материала становится очевидным, что простые белки специфически реагируют на действие фотонов большой энергии.

Поглощенная энергия может мигрировать по белковым структурам, проявляясь в наиболее уязвимых местах макромолекулы. Белки, поглощая энергию ионизирующих излучений в отсутствие воды, кислорода и тепловых воздействий, могут долгое время пребывать в возбужденном, радикальном состоянии, как бы консервируя поглощенную энергию.

Под влиянием облучения образуются «сшивки» между молекулами белка, благодаря которым понижается растворимость, увеличивается молекулярный вес и изменяется упорядоченность структур, построенных из белковых макромолекул.

Все эти изменения в нативной конфигурации белковой молекулы приводят к денатурации белка, которая проявляется в из-

менении е  
мономер  
При бо  
ковых мол  
заминиров  
дикалов

# ЛИТЕРАТУРА

1. T. Sved
2. W. Gog  
983, 1955
3. Л. Х. Э
4. Л. Х. Э  
2, 573, 1
5. R. Plat  
in Biolog
6. Л. А. Б
7. Л. А. Б
8. E. S. G.  
212, 1952
9. R. B. S
10. Л. Х. Э  
1958.
11. Е. Э. Га  
Радиоби
12. Г. Бар
13. М. А. Х
14. Т. Е. Па  
1955; 18,
15. М. А. Х
16. V. L. K
17. R. Sow  
1958; 11
18. D. Maz  
171, 195
19. C. L. S
20. L. G. A
21. K. S. K
22. B. K. T
23. W. R. C  
127, 195
24. B. K. K
25. A. M. K
26. E. L. P
27. E. S. G.
28. А. Г. I  
АН СССР
29. Т. Е. П  
АН СССР
30. М. А. Х
31. W. M. D
32. W. M. D  
242, 33.



менении его сорбционных и оптических свойств, поведении в мономолекулярных слоях.

При больших дозах облучения выявляется фрагментация белковых молекул, окисление сульфгидрильных групп, частичное деаминирование, декарбоксилирование, окисление фенольных радикалов и радикалов гетероциклических аминокислот.

## ЛИТЕРАТУРА

1. T. Svedberg, S. Brohult. *Nature*, **143**, 938, 1939.
2. W. Gordy, W. B. Ard, H. Shields. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **41**, 983, 1955.
3. Л. Х. Эйдуc. *Биофизика*, **1**, 544, 1956.
4. Л. Х. Эйдуc, М. Б. Каламкарова, Г. К. Отарова. *Биофизика*, **2**, 573, 1957.
5. R. Platzman, J. Franck. В кн.: «Symposium on Information Theory in Biology», N. Y.—London, 1958, p. 262.
6. Л. А. Блюменфельд, А. Э. Калмансон. *Биофизика*, **2**, 552, 1957.
7. Л. А. Блюменфельд, А. Э. Калмансон. *Биофизика*, **3**, 87, 1958.
8. E. S. G. Barron, C. Finkelstein. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **3**, 41, 212, 1952.
9. R. B. Setlow. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **34**, 396, 1951.
10. Л. Х. Эйдуc, Н. В. Кондакова, Г. К. Отарова, *Биофизика*, **3**, 215, 1958.
11. Е. Э. Ганасси, Н. В. Кондакова, Г. К. Отарова, Л. Х. Эйдуc. *Радиобиология*, **1**, 14, 1961.
12. Г. Баррон. В сб.: *Радиобиология*. М., ИЛ, 1955, стр. 266.
13. М. А. Хенох, Е. М. Лапинская. *Докл. АН СССР*, **102**, 5, 993, 1955.
14. Т. Е. Павловская, А. Г. Пасынский. *Коллоидный журнал*, **17**, 305, 1955; **18**, 583, 1956.
15. М. А. Хенох, Е. М. Лапинская. *Докл. АН СССР*, **110**, 125, 1956.
16. V. L. Koenig, J. D. Perrings. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **38**, 105, 1952.
17. R. Sowinski, L. Oharenko, V. L. Koenig. *Radiation Res.*, **9**, 229, 1958; **11**, 90, 1959.
18. D. Mazia, G. Blumental, *J. Cellular a. Compar. Physiol.*, **35**, Suppl. 1, 171, 1950.
19. C. L. Smith. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **50**, 322, 1954.
20. L. G. Angenstine, B. R. Ray. *J. Phys. Chem.*, **61**, 1380, 1957.
21. K. S. Korgaonkar, A. M. Desai. *Radiation Res.*, **11**, 625, 1959.
22. В. К. Ткач, В. В. Сидякин. *Радиобиология*, **1**, 641, 1961.
23. W. R. Carrol, M. J. Callanan, A. R. Mitchell. *Radiation Res.*, **1**, 127, 1954.
24. В. К. Керр, K. F. Michel. *Strahlentherapie*, **95**, 416, 1953.
25. А. М. Кузин, Е. Г. Плышевская. *Биофизика*, **1**, 141, 1956.
26. Е. Л. Розенфельд, Е. Г. Плышевская. *Биофизика*, **1**, 143, 1956.
27. E. S. G. Barron, J. Ambrose, P. Johnson. *Radiation Res.*, **2**, 145, 1955.
28. А. Г. Пасынский, М. С. Волкова, В. П. Блохина. *Докл. АН СССР*, **101**, 317, 1955.
29. Т. Е. Павловская, М. С. Волкова, А. Г. Пасынский. *Докл. АН СССР*, **101**, 723, 1955.
30. М. А. Хенох. *ЖОХ*, **11**, 776, 1941.
31. W. M. Dale, J. V. Davies, G. W. Gilber. *Biochem. J.*, **45**, 93, 1949.
32. W. M. Dale, L. Gray, W. Meredith. *Philos. Trans. Roy. Soc. London*, **242**, 33, 1949.



33. G. Stein, J. Weiss. J. Chem. Soc., 3245, 3256, 1949.
34. L. Duran, A. L. Tappel. Radiation Res., 9, 498, 1958.
35. G. R. Lappin, L. C. Clark. Analyt. Chem., 23, 541, 1951.
36. N. E. Sharpless, A. E. Brair, C. R. Maxwell. Radiation Res., 2, 135, 1955.
37. C. R. Maxwell, D. C. Peterson, W. C. Wite. Radiation Res., 2, 431, 1955.
38. D. C. Peterson, C. R. Maxwell. Radiation Res., 5, 590, 1956.
39. W. M. Garrison, W. Bennet, S. Cole, H. R. Haymond, B. M. Weeks. J. Amer. Chem. Soc., 77, 2720, 1955.
40. W. M. Garrison, B. M. Weeks. J. Chem. Phys., 24, 616, 195, 1956.
41. B. M. Weeks, W. M. Garrison. Radiation Res., 9, 291, 1958.
42. E. S. G. Barron, V. Flood. J. Gen. Physiol., 33, 229, 1950.
43. E. S. G. Barron. Ann. N. Y. Acad. Sci., 59, 574, 1955.
44. Т. Павловская, А. Пасынский. Докл. АН СССР, 134, 1960.
45. W. M. Dale, J. V. Davies. Biochem. J., 48, 129, 1951.
46. X. С. Коштойяңц. Белковые тела, обмен веществ и нервная регуляция. М., Изд-во АН СССР, 1951.
47. J. Kolousek, J. Liebster, A. Babicky. Nature, 179, 521, 1957.
48. O. F. Batzer, D. M. Doty. J. Agric. a. Food. Chem., 3, 64, 1955.
49. E. P. Marbach, D. M. Doty. J. Agric. a. Food Chem., 4, 881, 1956.
50. R. A. Sliwinsky, D. M. Doty. J. Agric. a. Food Chem., 6, 41, 1958.
51. И. П. Мищенко. Журн. эксперим. биол. и мед., 6, 17, 438, 1927.

ДЕЙСТВИЕ И  
НА НУКЛЕИН  
И ДРУГИЕ С

Р адиобио-  
материал  
клеопрот  
ты. Хорошо  
первую очередь  
нарушаются н  
ные ядра клет  
тые нуклеопро  
нуклеопротейд  
наследственные  
мутирования,  
протеиды при  
видим наиболь  
вещества в ж  
явлениями жи  
жизни. Действ  
Простейшие о  
ляют собой по  
ложнялись и  
емя с нуклео  
ществ, рост, р  
радиация, в п  
жение организ  
на нуклеопрот  
посредственно  
процессах.

Биологичес  
клеопротейдов  
ения белковой  
слот с белком,  
расположены  
также и от вз  
того химическ  
5 А. М. Кузин



## ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ, НУКЛЕОПРОТЕИДЫ И ДРУГИЕ СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

**Р**адиобиология располагает большим экспериментальным материалом о действии ионизирующих излучений на нуклеопротеиды и входящие в их состав нуклеиновые кислоты. Хорошо известно, что при облучении живых организмов в первую очередь поражается процесс деления клеточных ядер, нарушаются нормальные картины митоза, появляются аномальные ядра клеток, т. е. повреждаются структуры, наиболее богатые нуклеопротеидами. Воздействуя на нуклеиновые кислоты и нуклеопротеиды, ионизирующие излучения вызывают глубокие наследственные изменения, которые проявляются в увеличении мутирования, появлении уродств и аномалий развития. Нуклеопротеиды привлекают наше внимание и потому, что в них мы видим наиболее сложную форму существования органического вещества в живом организме, форму, неразрывно связанную с явлениями жизни и, по-видимому, необходимую для проявления жизни. Действительно, без нуклеопротеидов мы не знаем жизни. Простейшие формы жизни — растительные вирусы — представляют собой почти чистые нуклеопротеиды. И сколько бы ни усложнялись и разнообразились формы жизни, мы всегда встречаемся с нуклеопротеидами всюду, где идет активный обмен веществ, рост, размножение организмов. А так как ионизирующая радиация, в первую очередь, тормозит рост, развитие, размножение организмов, то неизбежно возникает вопрос о воздействии на нуклеопротеиды и нуклеиновые кислоты как на вещества, непосредственно принимающие участие в этих жизненно важных процессах.

Биологические функции нуклеиновых кислот, а тем более нуклеопротеидов, структура которых еще усложняется за счет строения белковой компоненты и характера связи нуклеиновых кислот с белком, зависят не только от природы химических групп, расположенных на поверхности этих гигантских молекул, но также и от взаимного расположения этих групп, от характера того химического ландшафта, который образуется благодаря



определенному типу строения данной макромолекулы. В этих высокополимерных соединениях мы имеем переход от явлений чисто химической активности отдельных химических групп к простейшим морфологическим структурам, образованным этими группами. В настоящее время уже показано экспериментально значение порядка расположения нуклеотидов в нуклеиновых кислотах для биосинтеза белка с определенной последовательностью аминокислот, выявлена роль этого порядка как своеобразного кода в явлениях наследственности. Совершенно ясно, что изменение структуры нуклеиновых кислот под влиянием облучения (деполимеризация, сшивки, окисление отдельных нуклеотидов и др.) может легко привести к нарушению наследственной информации, изменению синтеза специфических белков, т. е. к глубокому нарушению нормальных жизненных процессов в клетке.

Все сказанное еще раз подчеркивает важность исследования тех изменений, которые наступают в нуклеопротеидах и нуклеиновых кислотах под влиянием проникающих излучений.

В ряде исследований было показано, что при облучении растворов нуклеопротеидов легче всего изменяются физико-химические свойства этих полимеров.

Впервые Спэрроу и Розенфельд [1] показали, что при облучении растворов нуклеогистона зубной железы дозами 20 000—120 000 *p* вязкость падала по экспоненциальному закону.

Было установлено, что при облучении вязкость 1%-ного раствора дезоксирибонуклеопротеида (ДНП) в 1 М растворе NaCl уменьшается, однако в гораздо меньшей степени, чем это наблюдается при аналогичном облучении свободной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) [2].

Интересные данные получены при облучении суспензии нитей из ДНП, взвешенных в физиологическом растворе [3]. Нити нуклеопротеида получались путем разбавления его растворов в 1 М растворе NaCl дистиллированной водой pH 6,8. При облучении дозами 5, 10, 20 тыс. *p* и более удавалось, измеряя на спектрофотометре Бэкмана абсорбцию при 2600 Å, обнаружить переход в раствор нуклеиновых кислот.

Если перед облучением раствор заморозить до  $-20^{\circ}$ , распада не происходит, что заставляет допускать наличие не прямой химической реакции с радикалами воды.

В наших исследованиях совместно с Будиловой [4] была показана еще большая радиочувствительность нитей ДНП. Для выявления этой радиочувствительности ДНП, меченный  $P^{32}$ , получался путем предварительного введения радиоактивного фосфора в организм крысы и последующего выделения из печени. Тщательно отмытые нити меченого ДНП суспендировались в воде и облучались лучами Рентгена. Наблюдая за переходом  $P^{32}$  в раствор, можно было обнаружить (см. рис. 25) дезагрегацию нитей и

переход ДНП и  
при дозах в 100  
образовывалось

Пасынский  
тельной вязкости  
NaCl также при

Близкие да  
лучены и дру  
[6, 7]. Облуча  
и, по-видимому  
мененный ДНП  
блюдать изме  
после облуче  
10 *p* [8].

Все приве  
производились  
ДНП, изолиро  
цией 1 М р  
Однако извлеч  
рушению его  
нению вязкост  
нуклеопротеид  
кие растворы.  
нейных компл  
растворения  
линейная стру  
ной агрегации  
вязкости этих



переход ДНП или ДНК в коллоидно-растворимое состояние уже при дозах в 100—400  $p$  (неорганического фосфата при этом не образовывалось).

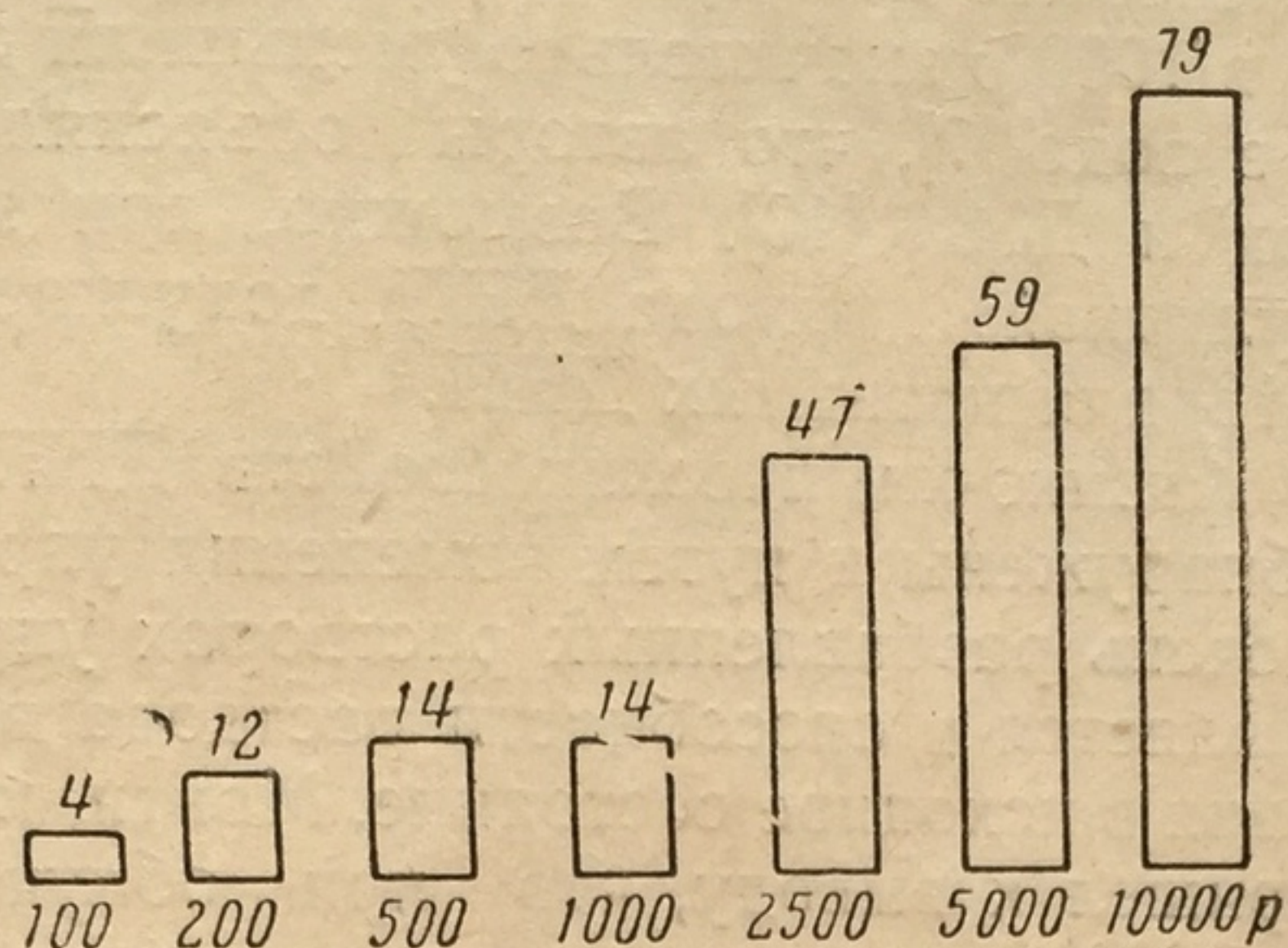


Рис. 25. Переход радиоактивных компонентов ДНП под действием облучения в растворимое состояние. Верхние цифры — процент  $P^{32}$ , перешедшего в коллоидно-растворимое состояние; нижние — дозы облучения

Пасынский обнаружил [5] заметные изменения относительной вязкости 0,2%-ных растворов нуклеопротеида в 1 М NaCl также при небольших дозах облучения:

Близкие данные были получены и другими авторами [6, 7]. Облучая неочищенный и, по-видимому, наименее измененный ДНП, удавалось наблюдать изменение вязкости после облучения дозой в 10  $p$  [8].

Все приведенные работы производились в основном с ДНП, изолированным экстракцией 1 М раствором NaCl.

Однако извлечение ДНП солевыми растворами приводит к разрушению его нативного состояния, что хорошо видно по изменению вязкости растворов нуклеопротеидов. Водные экстракты нуклеопротеидов из ядер клеток дают относительно маловязкие растворы. Это позволяет предположить наличие в них линейных комплексов из нуклеиновых кислот и белков. После растворения в солевых растворах, по-видимому, нарушается линейная структура, создается возможность более беспорядочной агрегации, что и приводит к значительному повышению вязкости этих растворов [8, 9].

Доза, $p$	Относительная вязкость раствора (вязкость необлученного раствора равна 1)
0	1,000
50	0,955
100	0,942
500	0,800
1000	0,752
5000	0,579



На основании изложенного выше были предприняты попытки определить чувствительность к действию радиации нативного нуклеопротеида, присутствующего в ядрах клеток.

Было отмечено, что изолированные ядра тотчас же после облучения дозой в 1000 *p* значительно уменьшили свою способность к набуханию в воде [7], что авторы объясняли диссоциацией ДНП на белок и ДНК [10]. Возможно, при этом нарушается «мультимолекулярная» природа ДНП, допускаемая некоторыми авторами [11, 12] для нативных ДНП.

Изменения физико-химических свойств ДНП при облучении могли быть обнаружены и путем изменения упругих свойств его растворов. В очень разбавленных растворах упругость нуклеопротеида проявляется в способности раствора возвращаться после закручивания в исходное состояние. Монти, используя эту методику [13], пришел к выводу, что при облучении растворов ДНП дозой в 1000 *p* происходит полное отщепление ДНК от белка.

Коле и Эллис [14], разработав мягкий способ извлечения ДНП из тканей, показали, что после облучения его при дозе в 850 *p* можно выявить скрытые изменения путем дополнительного воздействия протеолитическими ферментами (трипсином). Ферментативная скорость отщепления ДНК была большей у облученного ДНП.

Такая лабилизация связей ДНК с белком была продемонстрирована и на ДНП, изолированном из протопластов *E. coli*. Облучение суспендированных в 0,14 М NaCl нитей ДНП дозой в 1000 *p* приводило к более интенсивному отщеплению ДНК под влиянием трипсина по сравнению с необлученными нитями [15]. Из приведенного материала видно, что ДНП в водных или слабосолевых растворах относительно радиочувствителен, легко меняет свои физико-химические свойства (вязкость, набухаемость, упругость), что, несомненно, связано с нарушением конфигурации нативных макромолекул.

Эти изменения макромолекул ведут к повышению атакуемости ДНП протеолитическими ферментами, более легкому освобождению ДНК. Физико-химические изменения ДНП можно наблюдать начиная от доз в 100—200 *p*, а отчетливо они выражены при дозах облучения 800—1000 *p*.

Так как простые белки относительно устойчивы к таким дозам облучения, естественно предположить, что причина наблюдаемых изменений ДНП лежит в изменении конфигурации ДНК дезоксирибонуклеопротеида.

\* \* \*

Впервые подробное исследование влияния ионизирующих излучений на ДНК было проведено Тейлером, Гринштейном и Холлендером в 1947 г. [16] на ДНК, изолированной из зубной железы

телят. Полу  
что указыва  
мой пропор  
вора и кон  
относитель  
ления.  
Влияни  
валось при  
20 ма. Мощ

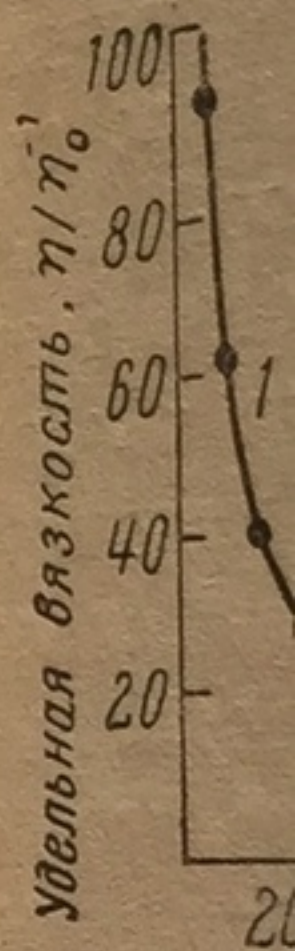


Рис. 26. Изм  
кости ДНК  
(0,2%-ный

1 — контрол

При об  
исходило  
ностью и  
что харак  
ности. Ис  
лучения  
Из ри  
жить изм  
настольк  
хотя еще  
22 400 *p*  
кости. И  
зывают  
дозы обл  
Эти д  
молекул



телят. Полученная ДНК была достаточно высокомолекулярна, на что указывало наличие аномальной вязкости, т. е. отсутствие прямой пропорциональности между относительной вязкостью раствора и концентрацией, и непропорционально быстрое падение относительной вязкости раствора с повышением внешнего давления.

Влияние проникающей радиации на растворы ДНК исследовалось при облучении их рентгеновскими лучами при 180 кВ и 20 мА. Мощность дозы облучения 5600 р в минуту.

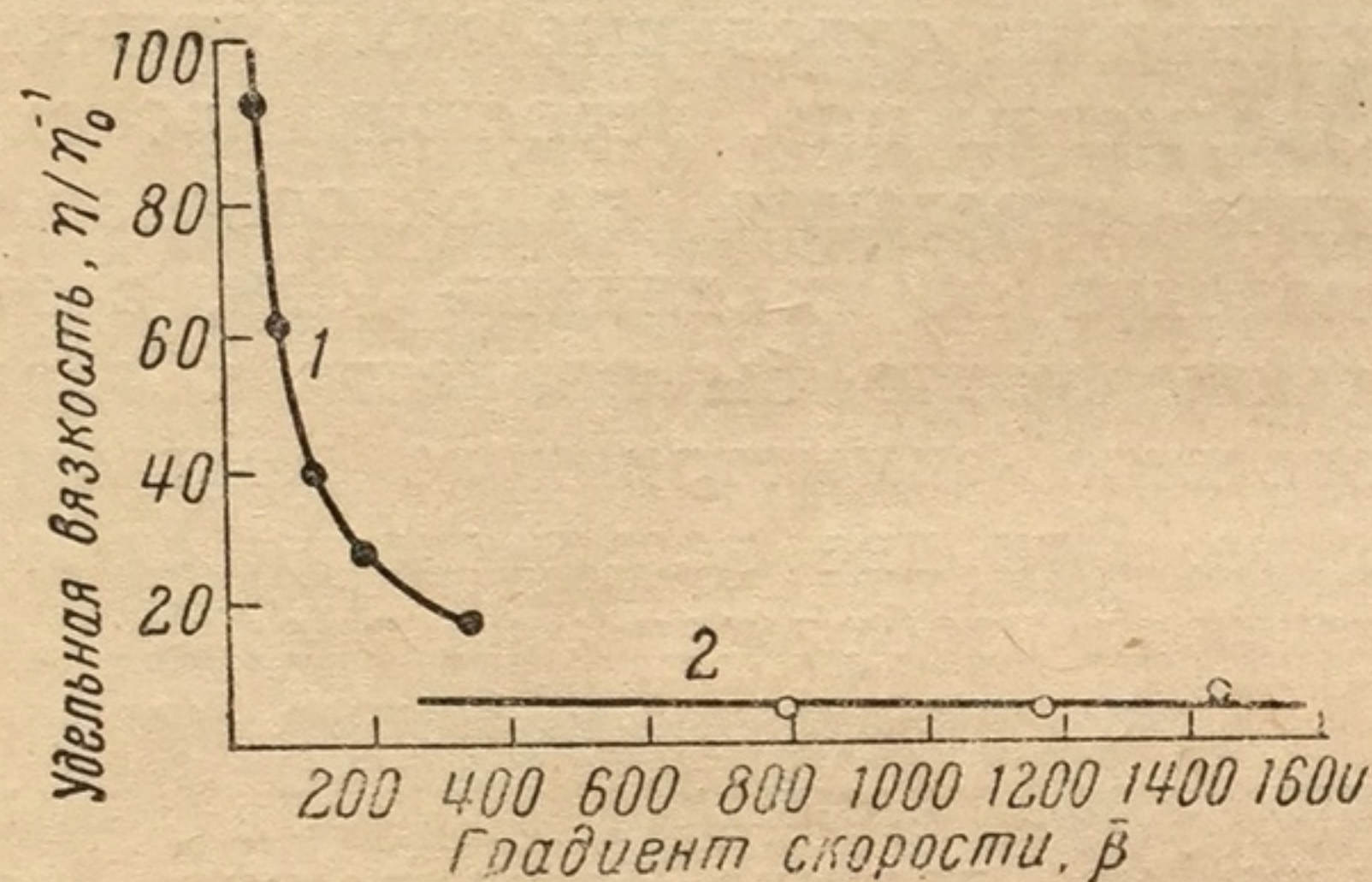


Рис. 26. Изменение структурной вязкости ДНК после облучения 168 000 р (0,2%-ный раствор ДНК в 2%-ном растворе NaCl)

1 — контроль; 2 — облученный раствор

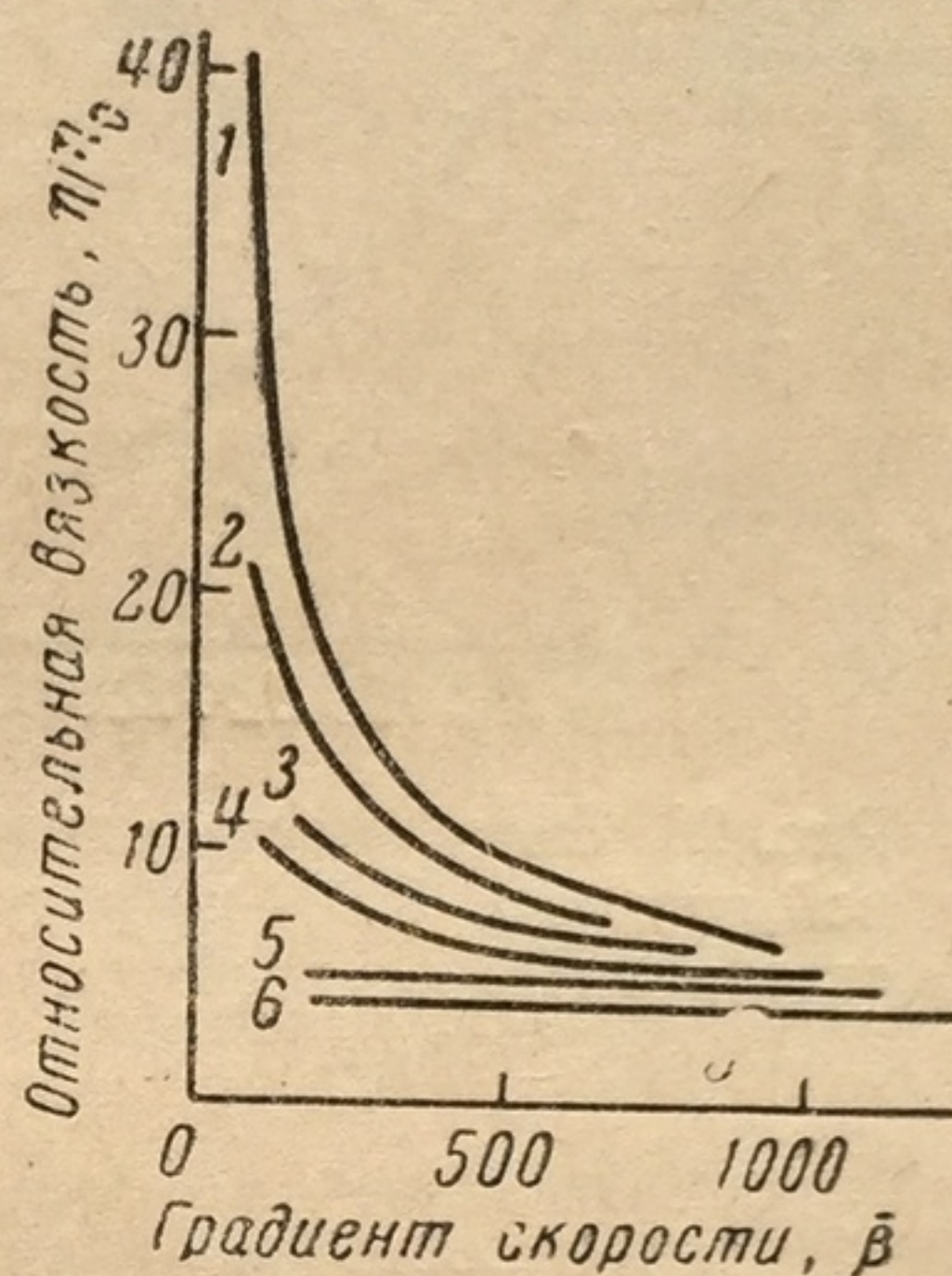


Рис. 27. Изменение структурной вязкости ДНК в зависимости от дозы облучения (0,2%-ный раствор ДНК в 2%-ном растворе NaCl)

1 — контроль; 2 — облучение 5600 р; 3 — 11 200 р; 4 — 16 800 р; 5 — 22 400 р; 6 — 28 000 р

При облучении дозой 168 000 р, как это видно из рис. 26, происходило резкое падение удельной вязкости раствора ДНК, полностью исчезала зависимость удельной вязкости от давления, что характеризовало полную утрату молекулярной асимметричности. Исследование удельной вязкости при различных дозах облучения дало результаты, представленные на рис. 27.

Из рисунка видно, что уже при дозе 5600 р удается обнаружить изменение структуры молекул, при 11 200 р это изменение настолько велико, что удельная вязкость падает в четыре раза, хотя еще некоторая асимметричность молекул и сохраняется; при 22 400 р наблюдается уже полное уничтожение структурной вязкости. Измерения, проведенные при постоянном давлении, показывают наличие линейной зависимости удельной вязкости от дозы облучения (рис. 28).

Эти данные свидетельствуют об изменении структуры макромолекул ДНК под действием ионизирующих излучений.



Падение структурной вязкости указывает на исчезновение асимметричности молекулы ДНК. Если в активной ДНК отношение осей молекулы, вычисленное из определения истинной вязкости, было равно 50—60, т. е. молекулы ДНК имели форму сильно вытянутых тел, то после облучения истинная вязкость падает

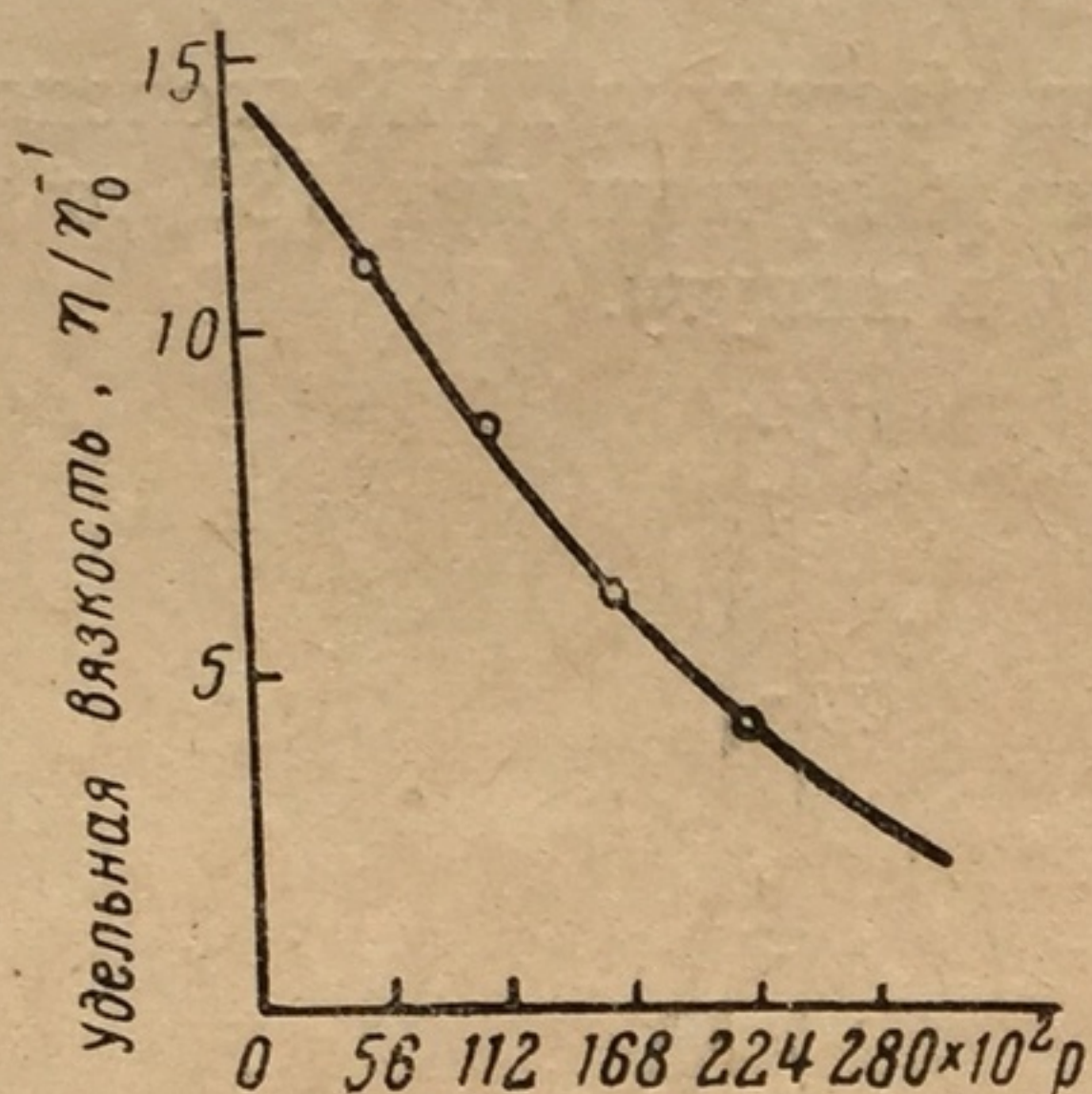


Рис. 28. Зависимость удельной вязкости 0,2%-ного раствора ДНК от дозы облучения

от 181 до 1,6, что соответствует отношению осей, равному единице, т. е. молекулам сферической формы. Исчезновение асимметричности могло произойти вследствие двух диаметрально противоположных процессов. Возможно, здесь имела место деполимеризация молекулы, распад на отдельные симметричные фрагменты или, вероятно, происходила агрегация палочкообразных молекул по их длинной оси, а это также могло бы привести к образованию симметричного конгломерата. Эти две возможности схематически изображены на рис. 29.

Сравнительное изучение поведения необлученных и облученных растворов ДНК в ультрацентрифуге должно было решить, какой процесс происходит в действительности (рис. 30).

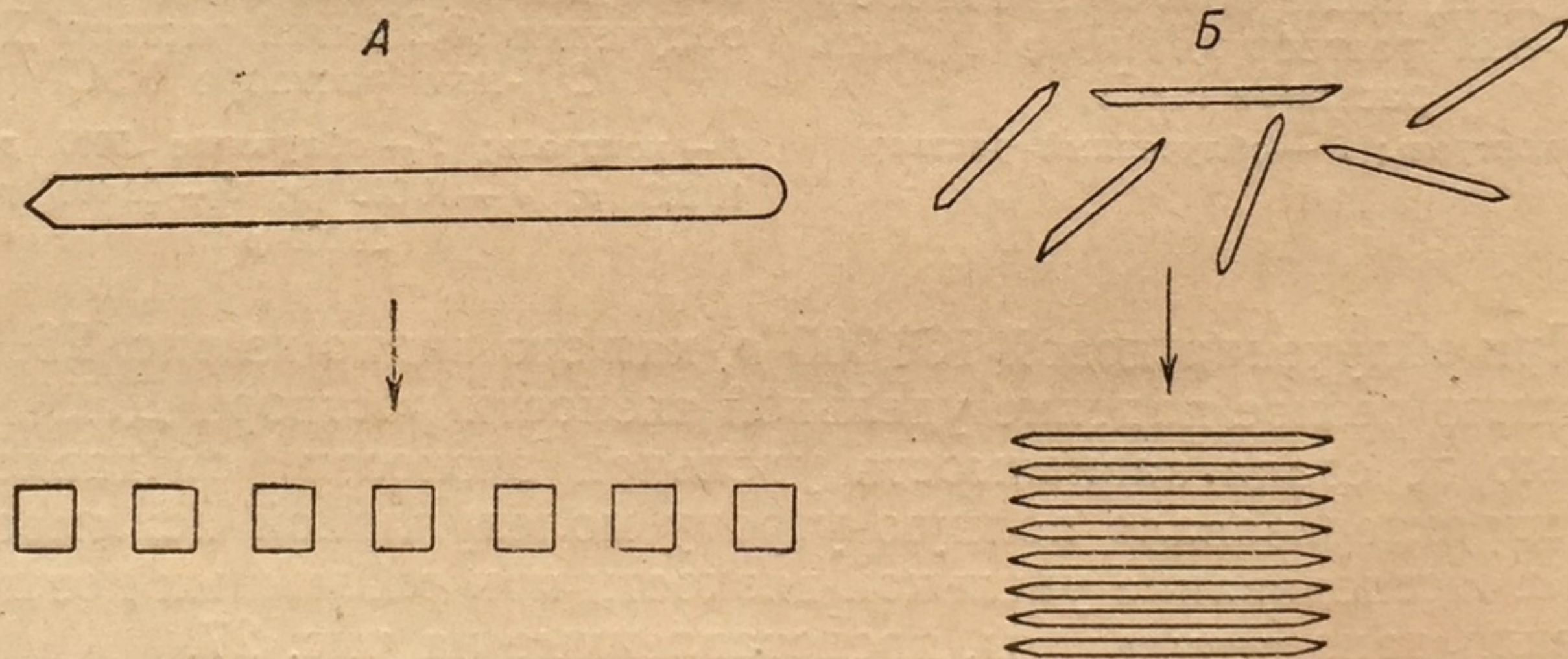


Рис. 29. Схема исчезновения асимметричности у ДНК  
А — деполимеризация; Б — агрегация

В то время как необлученный контрольный раствор ДНК вел себя как монодисперсная система и имел константу седиментации, равную 11 S, в облученном растворе (доза 168 000 p спустя 30 мин. после облучения) появлялась полидисперсность — частицы с различной величиной молекул и со средней константой седиментации, равной 5 S. Уменьшение константы седиментации



указывает на наличие процесса деполимеризации, на распад макромолекул нуклеиновых кислот под влиянием проникающих излучений. Эта деполимеризация идет до некоторого предела, причем образующиеся осколки ДНК еще достаточно велики, чтобы не проходить через полупроницаемую перепонку с порами величиной 20 Å. О процессе деполимеризации свидетельствует также неосаждаемость облученной ДНК 96%-ным спиртом в присутствии хлористого натрия, в то время как исходная ДНК в этих условиях полностью выпадает в осадок.

Значительное повышение радиочувствительности ДНК в растворе наблюдали Кузин и Будилова [17] при добавлении в момент облучения следов трехвалентного железа. При этом, как это видно из рис. 31, уже при дозе в 5000 p можно было наблюдать почти полную потерю структурной вязкости у облученных растворов ДНК.

Об изменении физико-химических свойств ДНК при облучении еще в меньших дозах можно было судить по оптическим свойствам. При добавлении к разбавленным растворам ДНК ионов Mg, Ca, Be или La наблюдается отчетливое понижение максимума поглощения при 260 мкм. Облучение дозой в 500 p значительно уменьшает эффект, что несомненно, говорит об изменении физико-химического состояния молекул ДНК [18].

При исследовании радиочувствительности очень разбавленных растворов ДНК (0,003—0,02%) путем измерения вязкости [19] и двойного лучепреломления в потоке [20] были найдены значительные сдвиги уже при дозах в 2000 p. Было показано, что в разбавленных растворах наблюдается большая радиочувствительность трансформирующих свойств ДНК [21, 22]. Детальное исследование чувствительности разбавленных растворов ДНК по ее трансформирующей активности было проведено Дефилипсом и Джилд [23]. Полученные ими результаты представлены на рис. 32.

Мы видим, что при концентрации 0,008 мг/мл инактивация 37% активности достигалась уже при дозе в 130 p, что говорит о большой радиочувствительности ДНК. Как показали Цейтлин, Спитковский и Тонгур [24], радиочувствительность ДНК возрастает при ее переходе из «сжатой» формы, в которой она нахо-

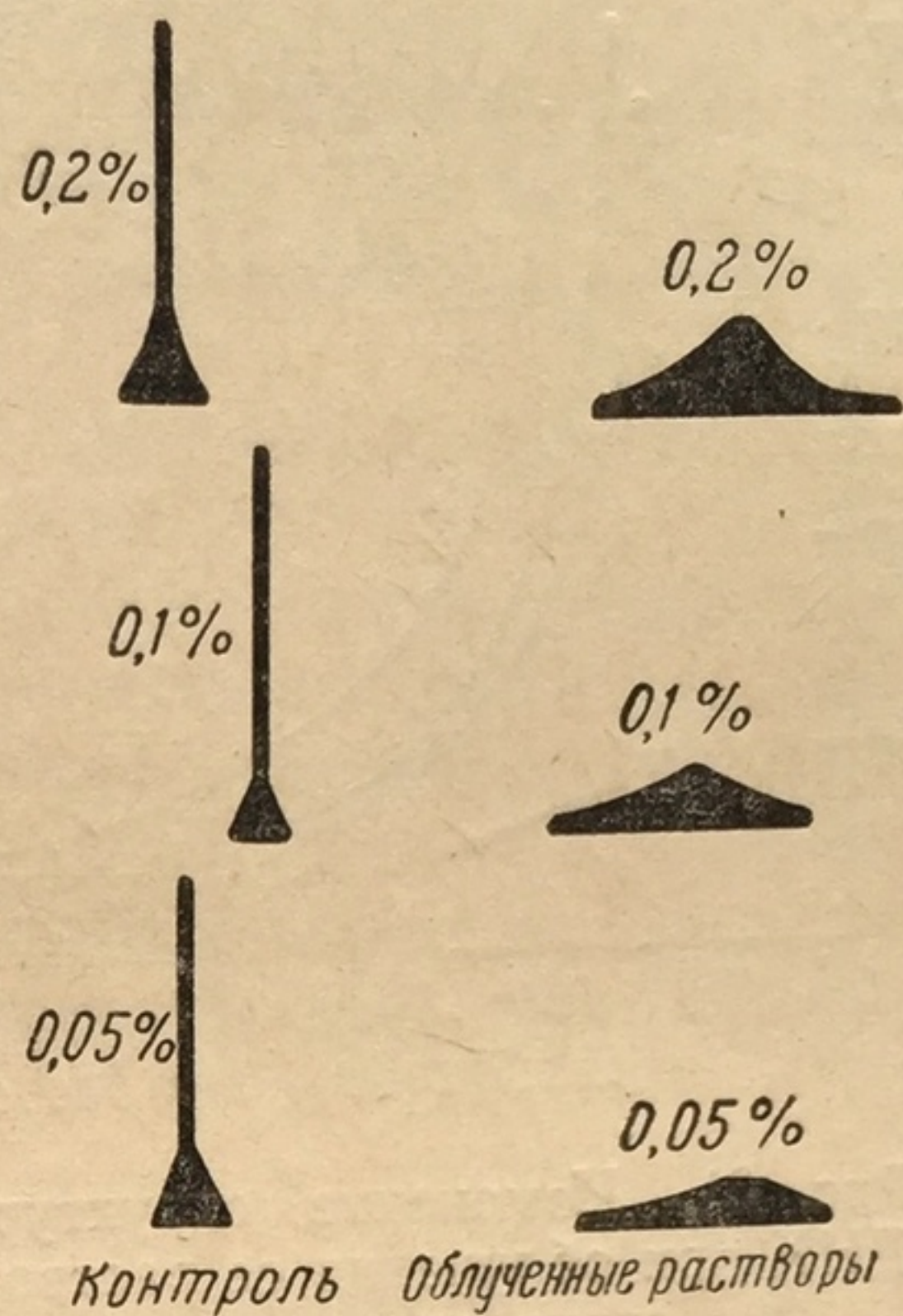


Рис. 30. Картины седиментации ДНК в ультрацентрифуге (20°, через 30 мин. после облучения)



дится в нуклеопротеиде, к «растянутой», характерной для ее свободного состояния при pH 7.

Радиочувствительность ДНК зависит и от метода ее выделения из клеток. Если выделять ДНК из тимуса фенольным методом Кирби [25] в модификации Георгиева [26], то можно получить

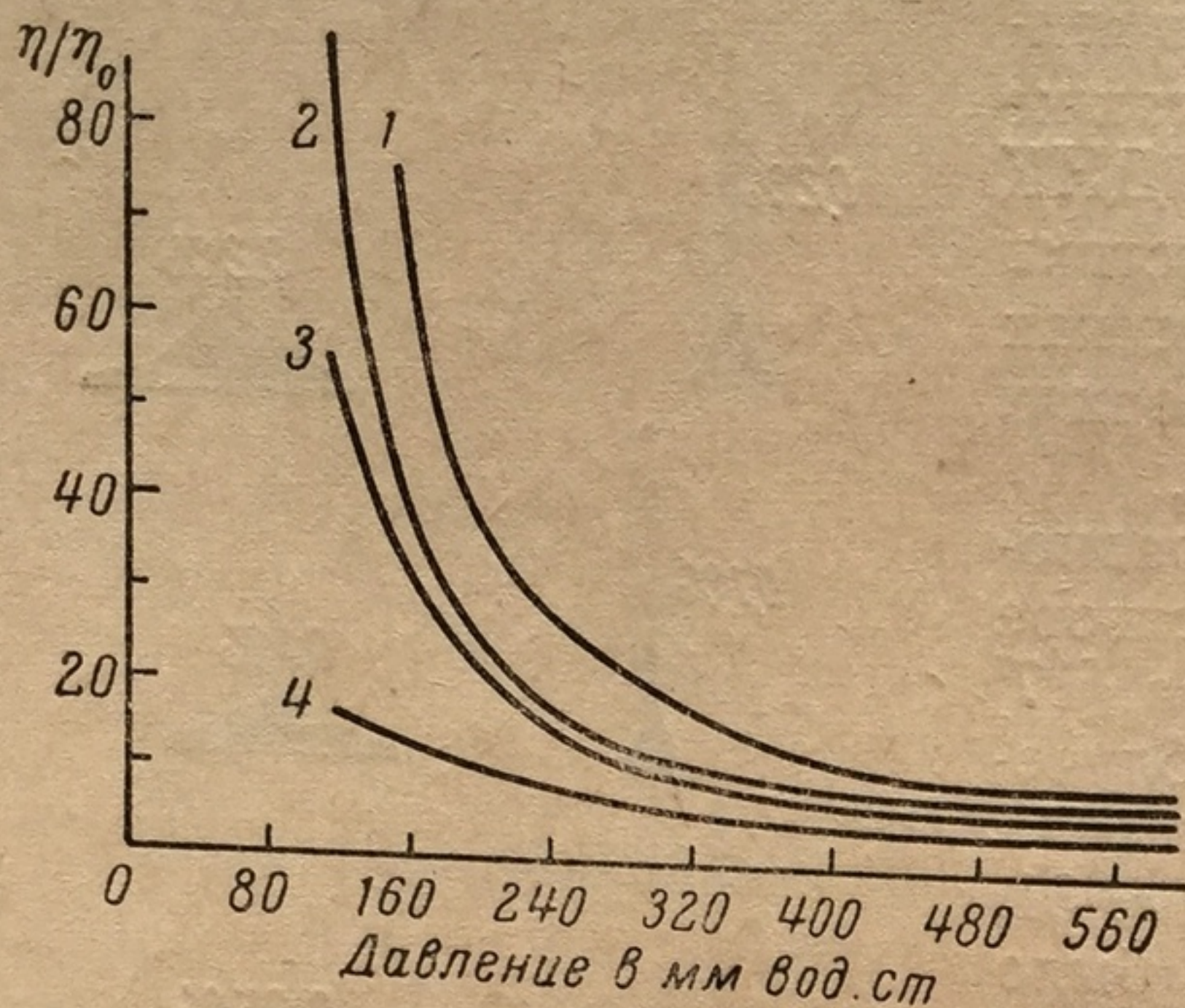


Рис. 31. Изменение структурной вязкости ДНК при облучении ее растворов в присутствии следов ионов железа

1, 2 — исходные растворы ДНК; 3 — раствор ДНК через 2 часа после облучения 5000 p; 4 — раствор ДНК+Fe<sup>+++</sup> 13,3×10<sup>-4</sup> M через 2 часа после облучения 5000 p

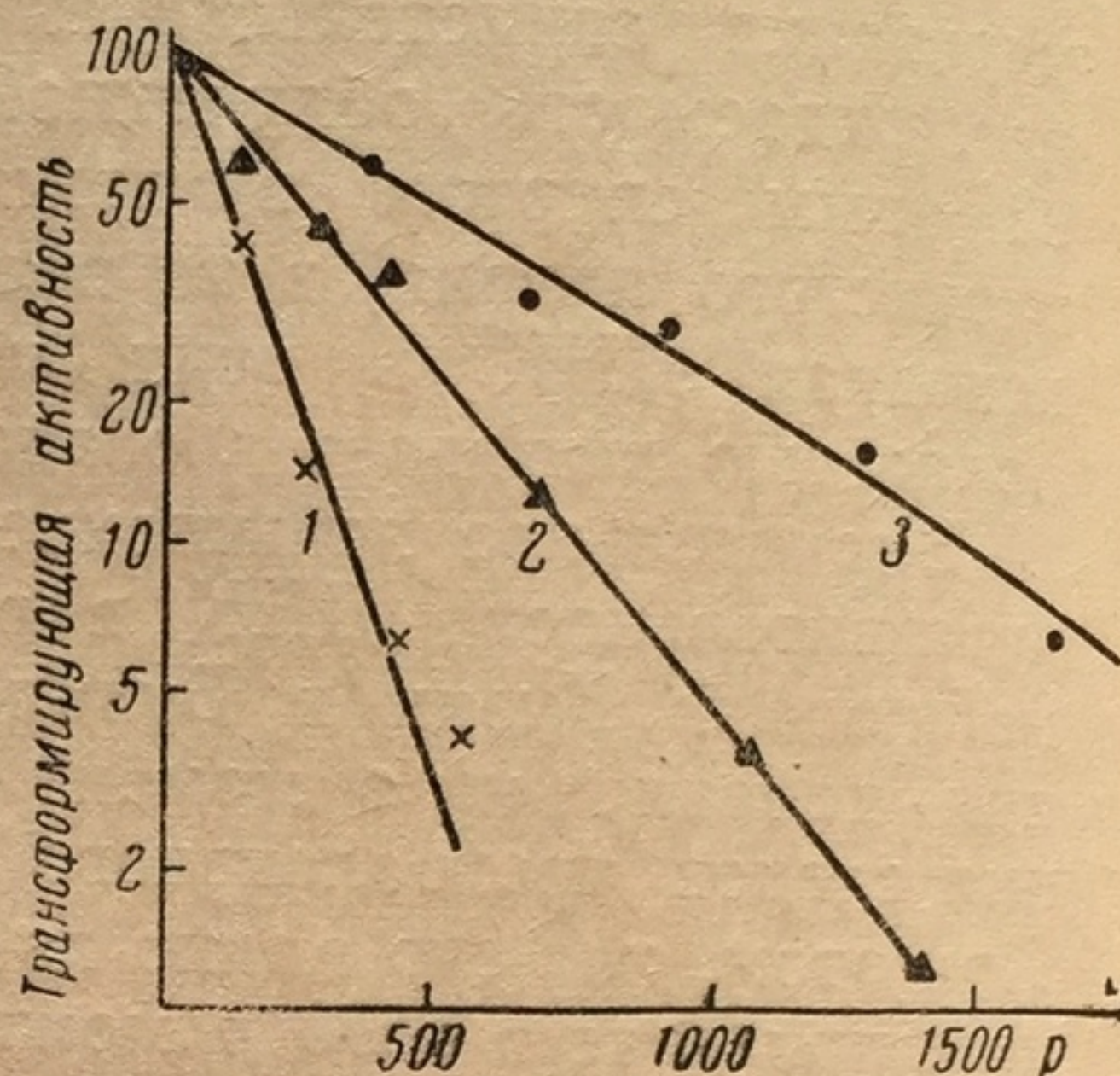


Рис. 32. Кривые зависимости изменения трансформирующей активности ДНК от дозы и концентрации ДНК:

0,008 мг/мл (1); 0,08 мг/мл (2); 0,8 мг/мл (3)

значительно более высокополимерную ДНК, чем это удавалось при использовании методов Мирского и Поллистра или Симонса и Кея.

Исследования Стручкова и Стражевской [27] в нашей лаборатории показали, что уже при дозе в 100 p тотчас после облучения наблюдается достоверное падение эластической вязкости (10%), которое достигает 20% при дозе 200 p. О большей радиочувствительности именно высокополимерных компонентов гетерогенной ДНК и сравнительной устойчивости менее полимерных говорят и наши исследования с Стручковым [28]. Нами была использована методика хроматографического разделения ДНК на колонках с эктиолцеллюлозой (по Бендичу). Как видно из рис. 33, после облучения растворов ДНК, даже в массивной дозе (70 тыс. p), когда наблюдается сильное падение вязкости ее растворов, распадаются только ее высокополимерные компоненты (исчезновение фракции 5).

Распад идет, по-видимому, не глубоко, так как увеличивается только соседняя, также достаточно высокополимерная фракция; более низкополимерные фракции, как это видно из сравнения

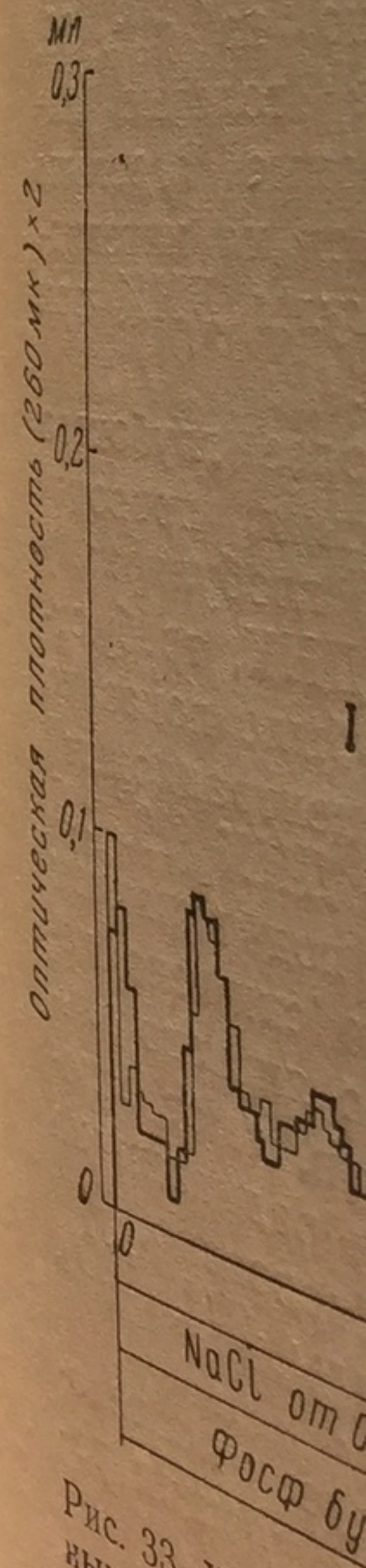


Рис. 33. Хроматограммы ДНК, полученные методом ионнообменной хроматографии (250 меш) 0,7 г. (но



хроматограмм, остаются без существенного изменения. Еще более чувствительны к действию радиации оказались надмолекулярные агрегаты ДНК, по-видимому, присутствующие в ядрах живых клеток.

Работами Дэвидсона [29], Томас и Метчесон [30], Хирши и другими [31, 32] было показано, что при использовании фенольного метода выделения в особо мягких условиях без грубых механических воздействий удается извлечь из бактериофага и спермы форели ДНК в чрезвычайно полимерном состоянии (мол. в.  $\sim 40$  млн.).

Георгиев и Стручков [33] показали, что, используя этот способ выделения, можно изолировать и из тканей животного (ядерные эритроциты кур, клетки костного мозга, тимус) неразделенный комплекс ДНК и РНК, очень разбавленные растворы которого обладали аномально высокими эласто-вязкостными свойствами [34].

Добавление кристаллической рибонуклеазы не меняло этих свойств, следовательно они обуславливались особыми надмолекулярными агрегатами.

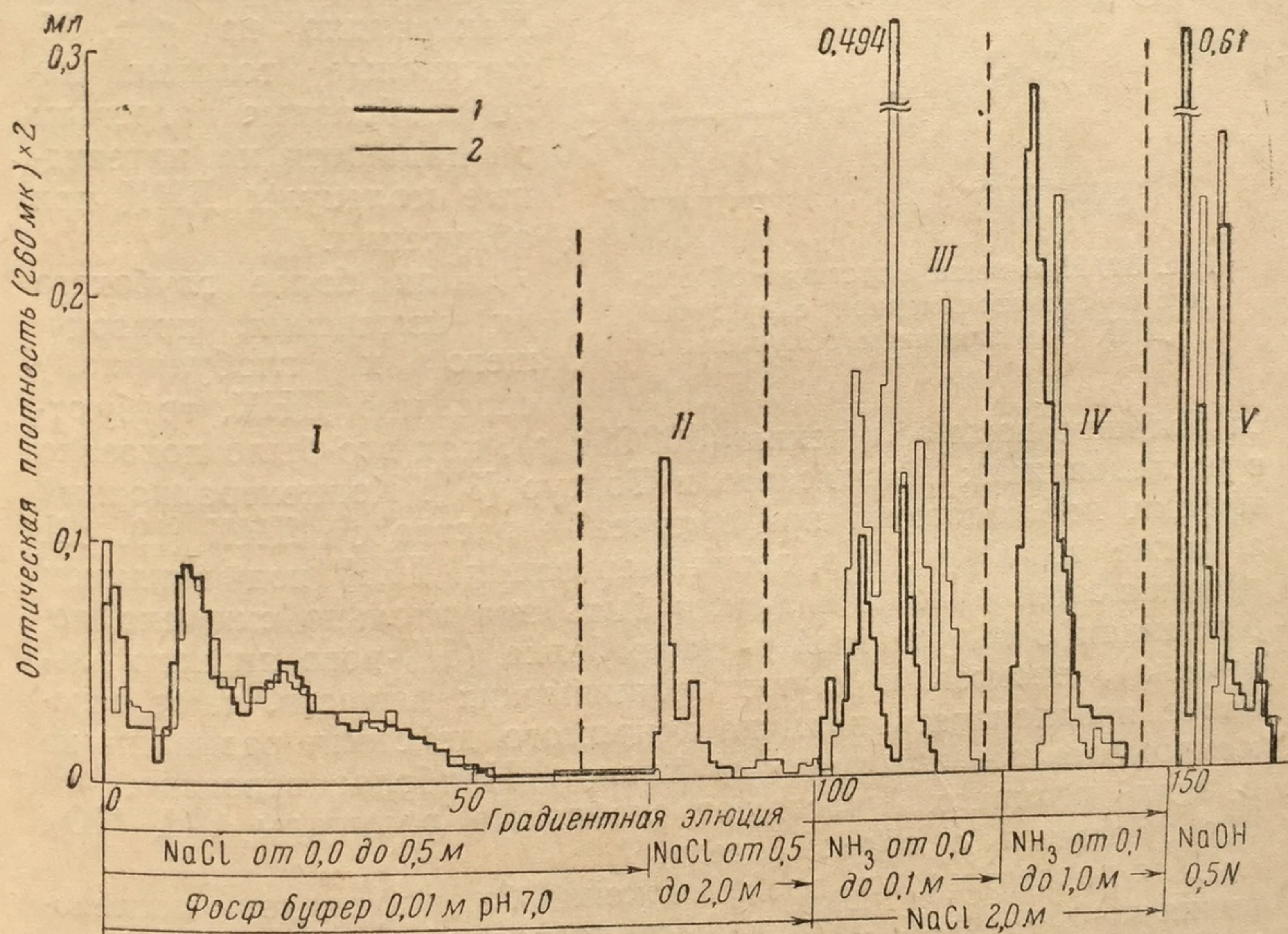


Рис. 33. Хроматограммы ДНК, полученной из зубной железы теленка фенольным методом и облученной  $70\,000\text{ p}$  *in vitro*. Колонки эктеолцеллюлозы (150—250 меш) 0,7 г. Скорость элюции 5—7 мл/час. Использована схема градиентной элюции с двумя смесительными камерами

1 — норма; 2 — облучение; I—V — фракции



кулярными структурами ДНК (добавление дезоксирибонуклеазы моментально изменяло свойства раствора) [33]. Эластостические свойства полученных надмолекулярных структур ДНК оказались чрезвычайно чувствительны к облучению, что хорошо видно из результатов опытов Стручкова и Стражевской [35],

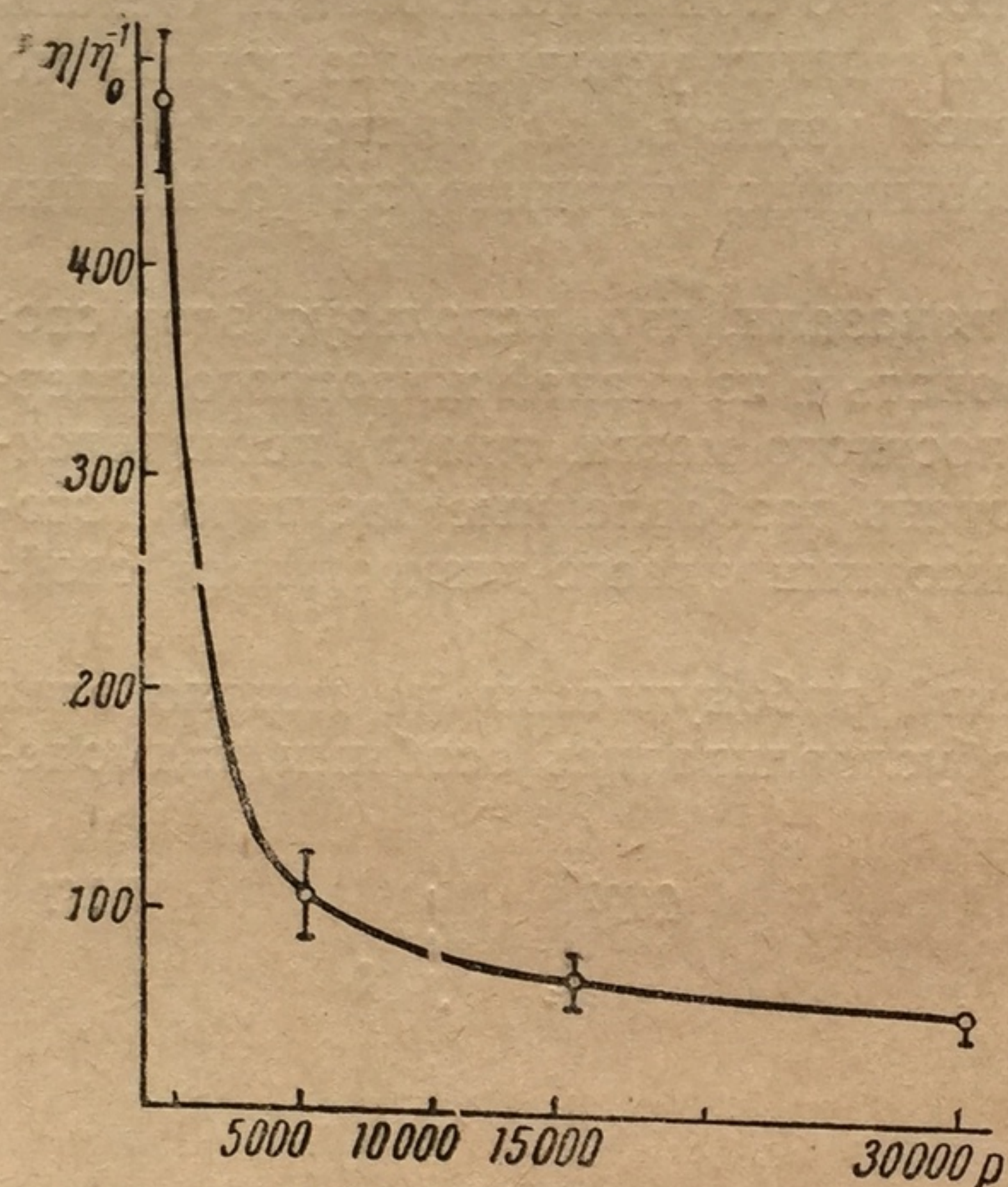


Рис. 34. Изменение эластической вязкости сверхполимерной структуры ДНК под влиянием облучения

представленных на рис. 34.

Эту чувствительность надмолекулярных агрегатов к действию радиации можно было наблюдать и при исследовании этой формы ДНК в электронном микроскопе.

Стручкову, Джоун-Хе и Стражевской [36] удалось получить снимки нативной надмолекулярной структуры ДНК и после облучения ее растворов. Как видно из рис. 35, массивные толстые палочкообразные агрегаты распадаются на нитевидные молекулы ДНК при облучении.

Для более глубокого их изменения, приводящего к глобулярному строению ДНК, требуются

большие дозы облучения (100 000 p), как это было показано в исследованиях Пасынского и Тонгур [37]. Концентрационный эффект, наблюдаемый при облучении растворов ДНК [19, 38], а также тот факт, что деполимеризация ДНК под влиянием проникающей радиации может быть значительно снижена добавлением в облучаемый раствор белка (5%-ного яичного альбумина), глюкозы и других органических веществ, дают основание предполагать наличие непрямого действия радиации на макромолекулы нуклеиновых кислот. Наиболее вероятно, что в этих реакциях участвуют свободные радикалы  $\text{OH}$ ,  $\text{HO}_2$ , образующиеся в водной среде.

Для проверки этого предположения были проведены исследования по облучению ДНК в сухом состоянии с последующим растворением и исследованием вязкости [39].

Облучение раствора ДНК в дозе 100 000 p приводило к полной потере структурной вязкости, в то время как облучение в той же дозе ДНК в сухом состоянии почти не давало отклонения от контроля.



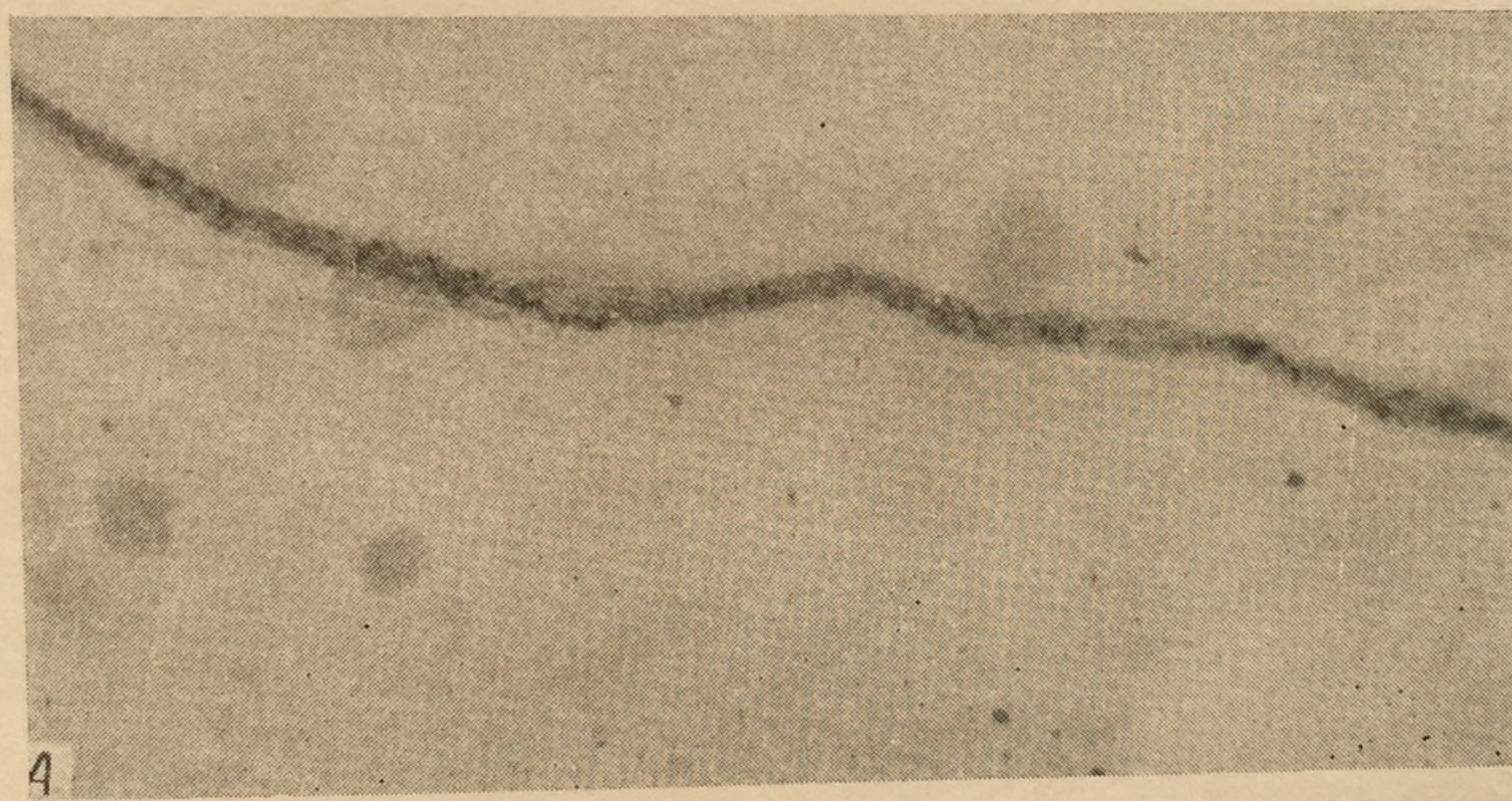
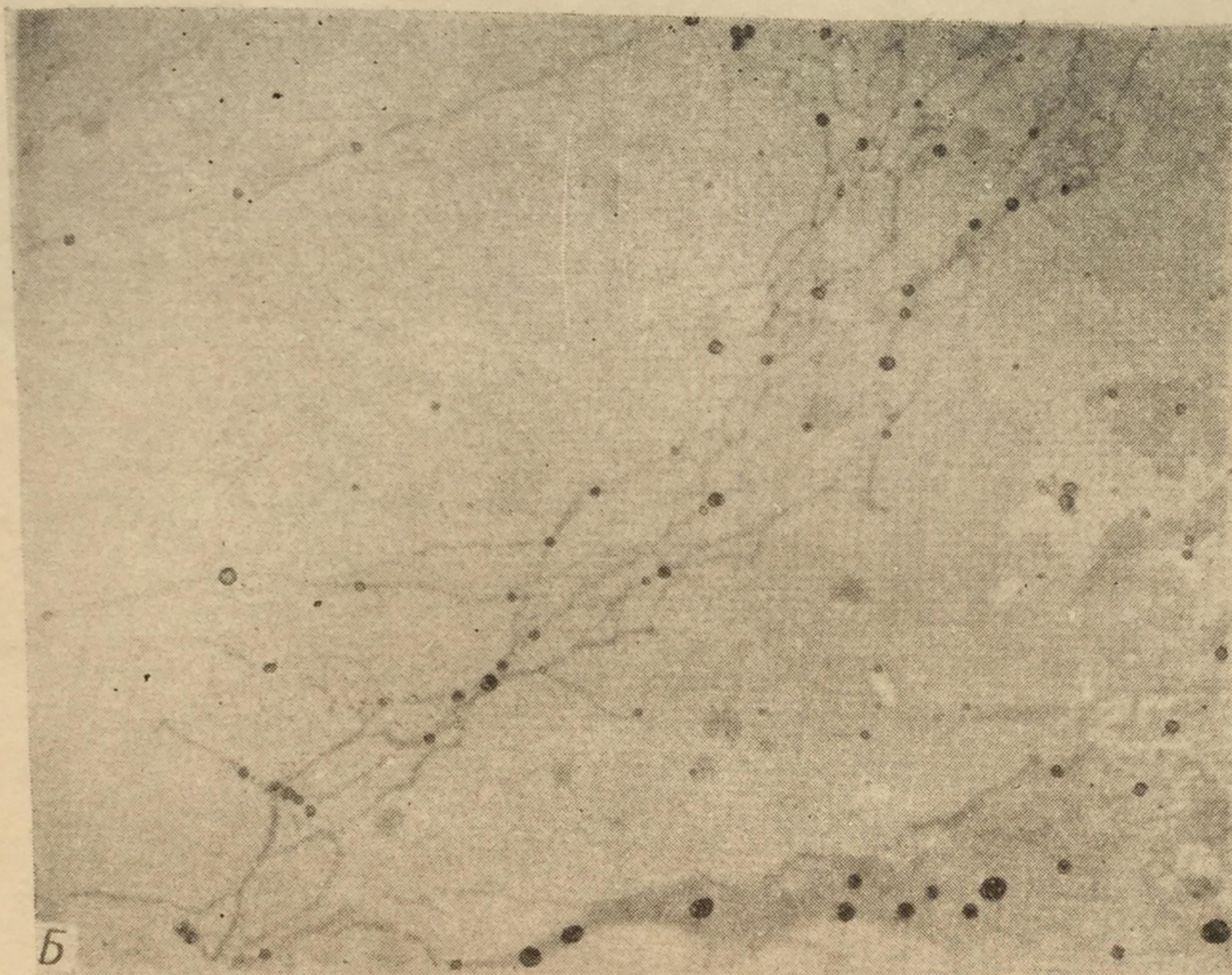


Рис. 35. Электронномикроскопические снимки надмолекулярной ДНК (А) и ее распада после облучения (Б)



Значительн  
мороженных р  
виях комнатно  
далось при об  
эти наблюдени  
процессе депо  
об изменении  
на нее свобод

Для прове  
по сравнители  
ских соединен  
сила. В качес  
водорода в пр

Как видно  
исчезновение  
тому, что наб  
зации под вли  
по снижению  
мочевина, явл  
лов гидроксил  
чае облучения  
ного железа (

Снижение двойн  
химическ

Контроль . . .  
Облучение 50 00  
Облучение 100  
Облучение 100  
 $10^{-2}$  М  $\text{H}_2\text{O}_2$   
 $10^{-4}$  М  $\text{FeSO}_4$   
 $10^{-2}$  М  $\text{H}_2\text{O}_2$  +  
 $10^{-2}$  М  $\text{H}_2\text{O}_2$  -

Аналоги  
дикалов ги  
ментации  
сутствии а  
т. е. систе  
Однако  
молекул Д  
ное прямо



Значительно меньший эффект был получен при облучении замороженных растворов ДНК по сравнению с облучением в условиях комнатной температуры. Деполимеризации почти не наблюдалось при облучении ДНК, растворенной в этиленгликоле. Все эти наблюдения указывают на непосредственное участие воды в процессе деполимеризации и делают вероятным предположение об изменении ДНК во время облучения в результате воздействия на нее свободных радикалов  $\text{OH}$  или  $\text{HO}_2$ .

Для проверки этого предположения были проведены опыты по сравнительному исследованию действия радиации и химических соединений, продуцирующих свободные радикалы гидроксила. В качестве последних использовалась система перекиси водорода в присутствии закисного железа.

Как видно из рис. 36, в течение 15 мин. наблюдается полное исчезновение структурной вязкости раствора ДНК, аналогично тому, что наблюдается и при облучении. О процессе деполимеризации под влиянием свободных радикалов  $\text{OH}$  можно судить и по снижению двойного лучепреломления в потоке, причем тиомочевина, являющаяся активным акцептором свободных радикалов гидроксила, задерживала деполимеризацию ДНК как в случае облучения, так и при действии перекиси в присутствии закисного железа (в последнем случае в меньшей степени) (табл. 16).

Таблица 16

Снижение двойного лучепреломления в потоке после облучения и действия химических донаторов радикала  $\text{OH}$  на 0,2%-ный раствор ДНК

Реагент	Время после воздействия, часы	Двойное лучепреломление в потоке, мм
Контроль . . . . .	—	480
Облучение 50 000 p . . . . .	24	240
Облучение 100 000 p . . . . .	24	150
Облучение 100 000 + $10^{-1}$ М тиомочевина . . . . .	24	480
$10^{-2}$ М $\text{H}_2\text{O}_2$ . . . . .	24	480
$10^{-4}$ М $\text{FeSO}_4$ . . . . .	24	480
$10^{-2}$ М $\text{H}_2\text{O}_2$ + $10^{-4}$ М $\text{FeSO}_4$ . . . . .	0,5	20
$10^{-2}$ М $\text{H}_2\text{O}_2$ + $10^{-4}$ М $\text{FeSO}_4$ + $10^{-1}$ М тиомочевина . . . . .	0,5	40

Аналогия в действии облучения и химических донаторов радикалов гидроксила сказалась и при исследовании кривых седиментации ДНК и структурной вязкости растворов ДНК в присутствии аскорбиновой кислоты и перекиси водорода (рис. 37), т. е. системы, также дающей активные радикалы  $\text{OH}$ .

Однако, принимая во внимание гигантские размеры макромолекул ДНК, нельзя окончательно исключить и непосредственное прямое действие ионизирующих частиц на молекулы ДНК.



Роль прямого действия, по-видимому, сильно возрастает при переходе от разбавленных растворов к концентрированным и особенно при облучении сухой ДНК. По расчетам Батлера [19], Джильда и Дефилипса [38], эффективность действия прямого и непрямого действия в растворах примерно равны в широких пределах варьирования концентрации ДНК.

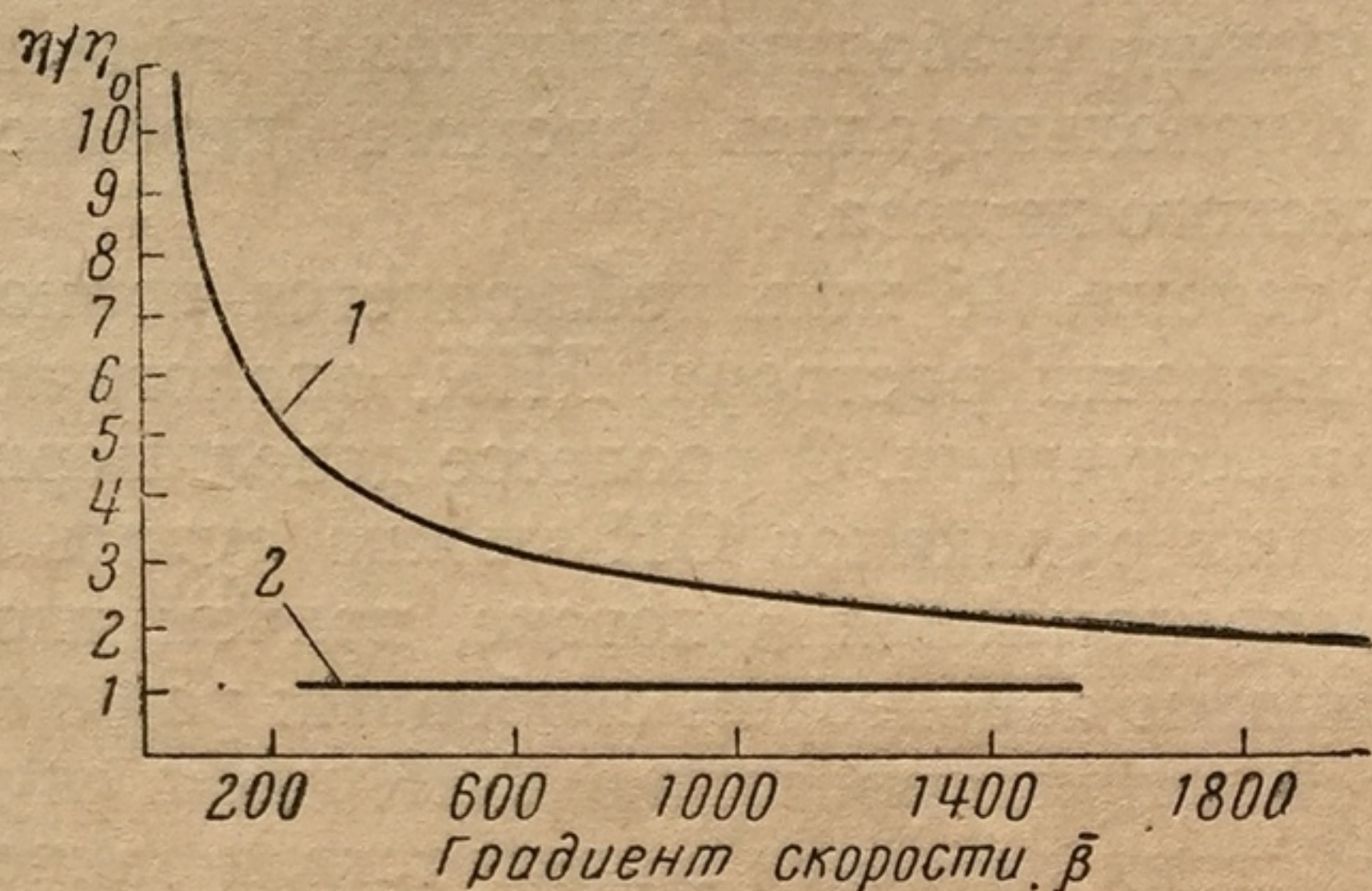


Рис. 36. Влияние радикалов гидроксила на структурную вязкость ДНК (0,196%-ный раствор)

1 — контроль; 2 — контроль +  $10^{-4}$  М  $\text{Fe}_2\text{SO}_4$  +  $10^{-3}$  М  $\text{H}_2\text{O}_2$  в течение 15 мин.

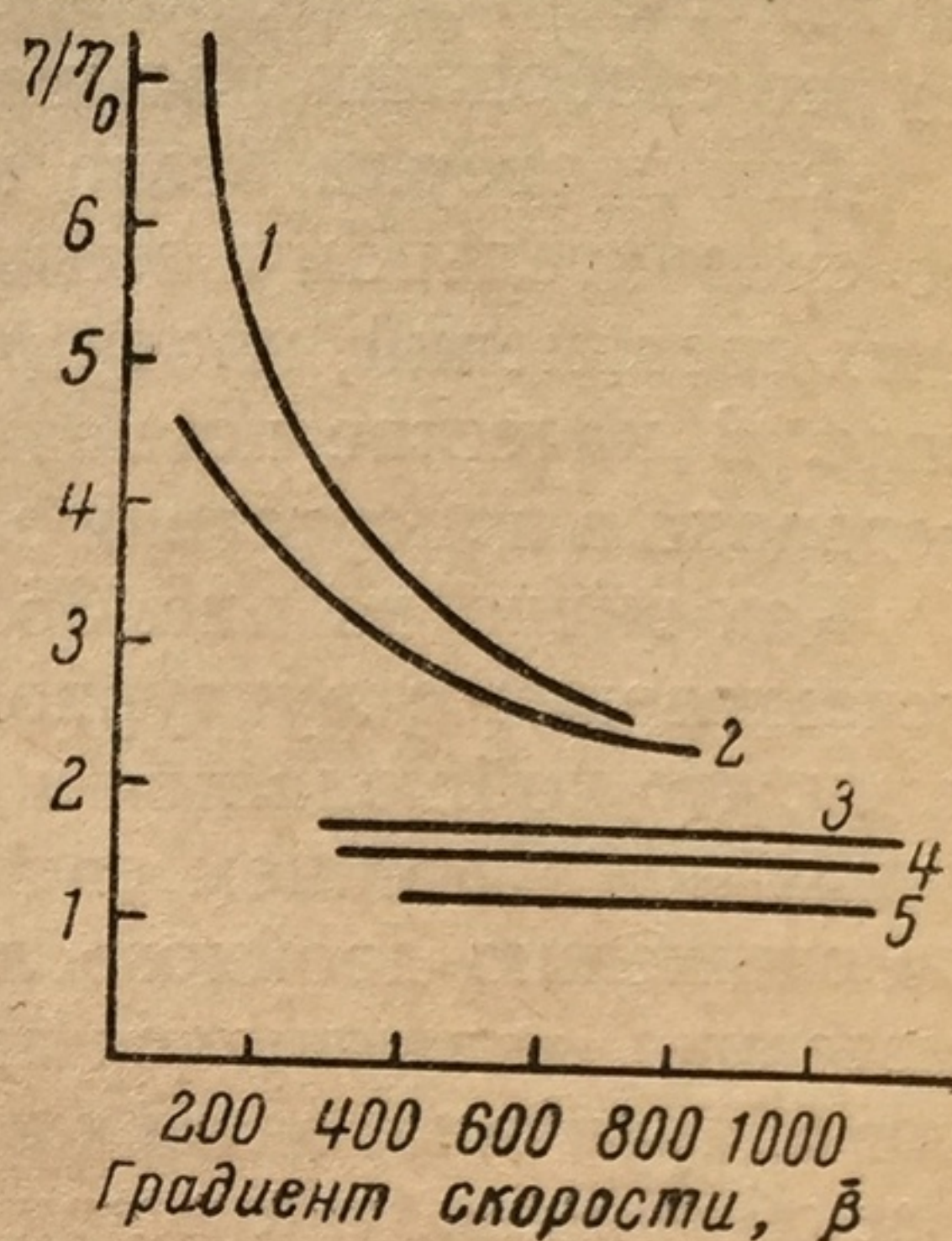


Рис. 37. Влияние аскорбиновой кислоты и  $\text{H}_2\text{O}_2$  на структурную вязкость ДНК

1 — контроль; 2 —  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислоты через 15 мин.; 3 —  $10^{-3}$  М аскорбиновой кислоты +  $10^{-4}$  М  $\text{H}_2\text{O}_2$ ; 4 — то же через 5 час.; 5 — то же через 24 часа

К несколько иным выводам приходит Мекшенков [40], используя для определения эффективности непрямого действия защиту ДНК солями иодистого калия.

Каковы же изменения в структуре молекулярной ДНК можно допустить при облучении ее растворов или сухих препаратов.

Исходя из современных представлений о двуспиральной структуре молекул ДНК [41], удерживаемой водородными связями между пуриновыми и пиримидиновыми основаниями, принимая в среднем молекулярный вес равным  $6 \times 10^6$  [42], следует считать, что средняя длина нитевидной молекулы достигает 34 000 Å. По исследованиям Доти [43], такая длинная нитевидная молекула в разбавленных растворах скручивается в клубок, причем его плотность может меняться в зависимости от сгибаемости, жесткости структуры ДНК, как это показано в схеме на рис. 38.

Александр, Летт, Морозон и Стэси [44] допускают следующие четыре возможности изменения макроструктуры молекулы ДНК под влиянием облучения.



1. Двойной разрыв — одновременный разрыв нуклеотидных цепей в двойной спирали, который ведет к уменьшению молекулярного веса, укорочению длины молекулы, падению приведенной вязкости.

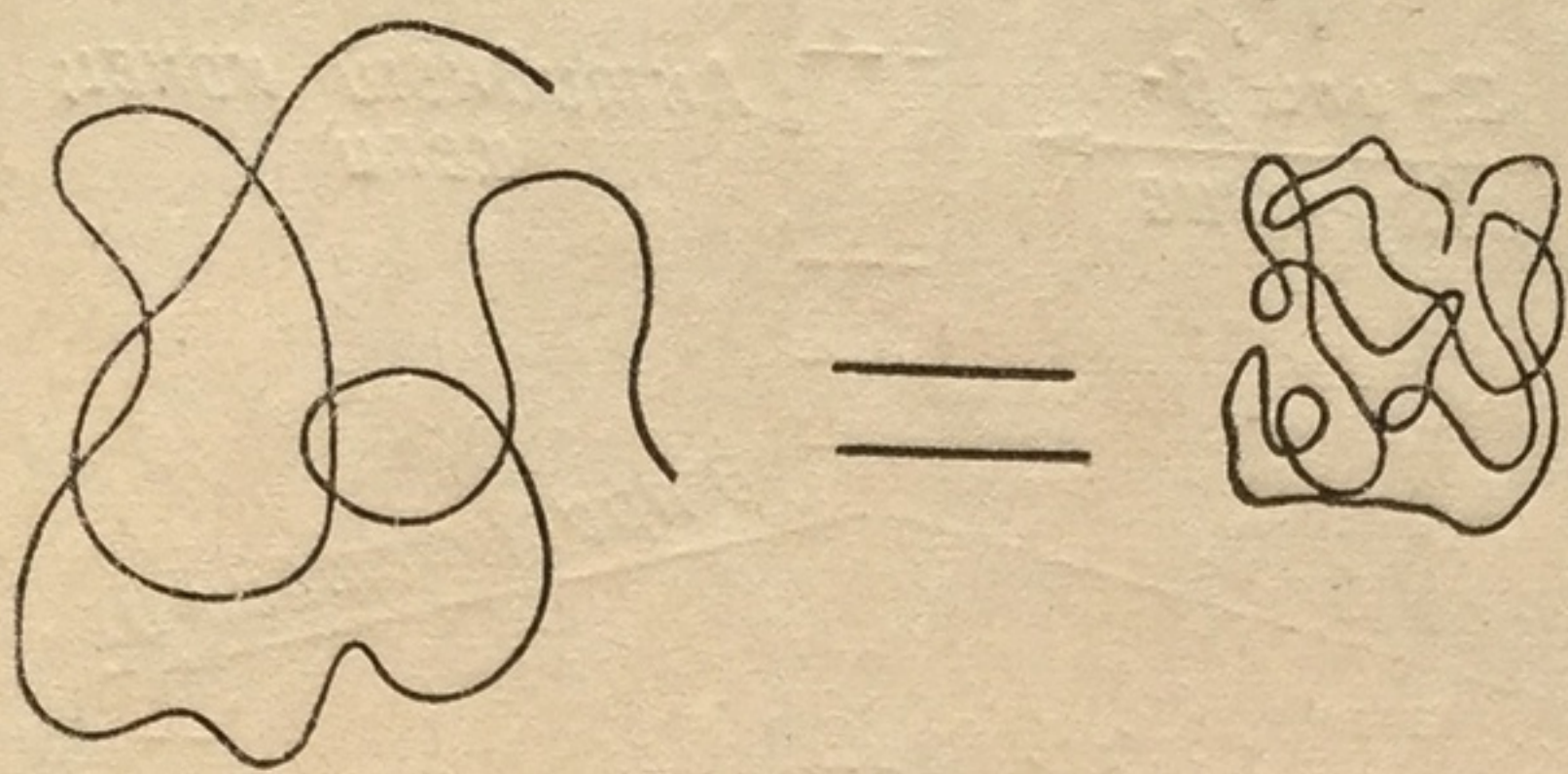


Рис. 38. Образование клубка из нитевидной сгибаемой молекулы ДНК. При повышении сгибаемости «клубок» может занять меньший объем в растворе

2. Разрыв в одной спирали может сделать молекулу более сгибаемой и привести к свертыванию клубка. Молекулярный вес не меняется, вязкость падает, уменьшается объем, занимаемый молекулой в растворе.

3. Образование «мостиков» между молекулами, которое ведет к повышению молекулярного веса, увеличению вязкости, уменьшению растворимости и образованию нерастворимых гелей.

4. Образование разветвленной молекулы вследствие присоединения обломков молекулы к неповрежденным молекулам ДНК. Другими словами, суммарный эффект от двойного разрыва и образования «мостика».

Разные виды радиации и условия облучения ДНК приводят к различному эффекту.

При  $\beta$ - и  $\alpha$ -облучении растворов ДНК преобладает не прямое действие в основном через радикалы ОН, обуславливающее главным образом «двойные разрывы» с уменьшением молекулярного веса ДНК.

$\beta$ - и  $\alpha$ -облучение ядер спермы рыб ведет к образованию мостиков между молекулами. Облучение сухой ДНК дает и разрывы и мостики. Результат сильно зависит от сохранения нативной структуры ДНК. В нативной, более упорядоченной структуре наличие разрывов и мостиков приводит к образованию разветвленных молекул ДНК.

При облучении переосажденной, а затем высушенной ДНК преобладает дегградация, распад в силу дезориентированного беспорядочного расположения нитей.

$\alpha$ -облучение ведет только к двойным разрывам, без образования мостиков, вне зависимости от состояния ДНК. Как пока-



зали исследования Александра с сотрудниками [45—47], образование мостиков или «сшивок» между молекулами ДНК происходит наиболее хорошо в отсутствие кислорода.

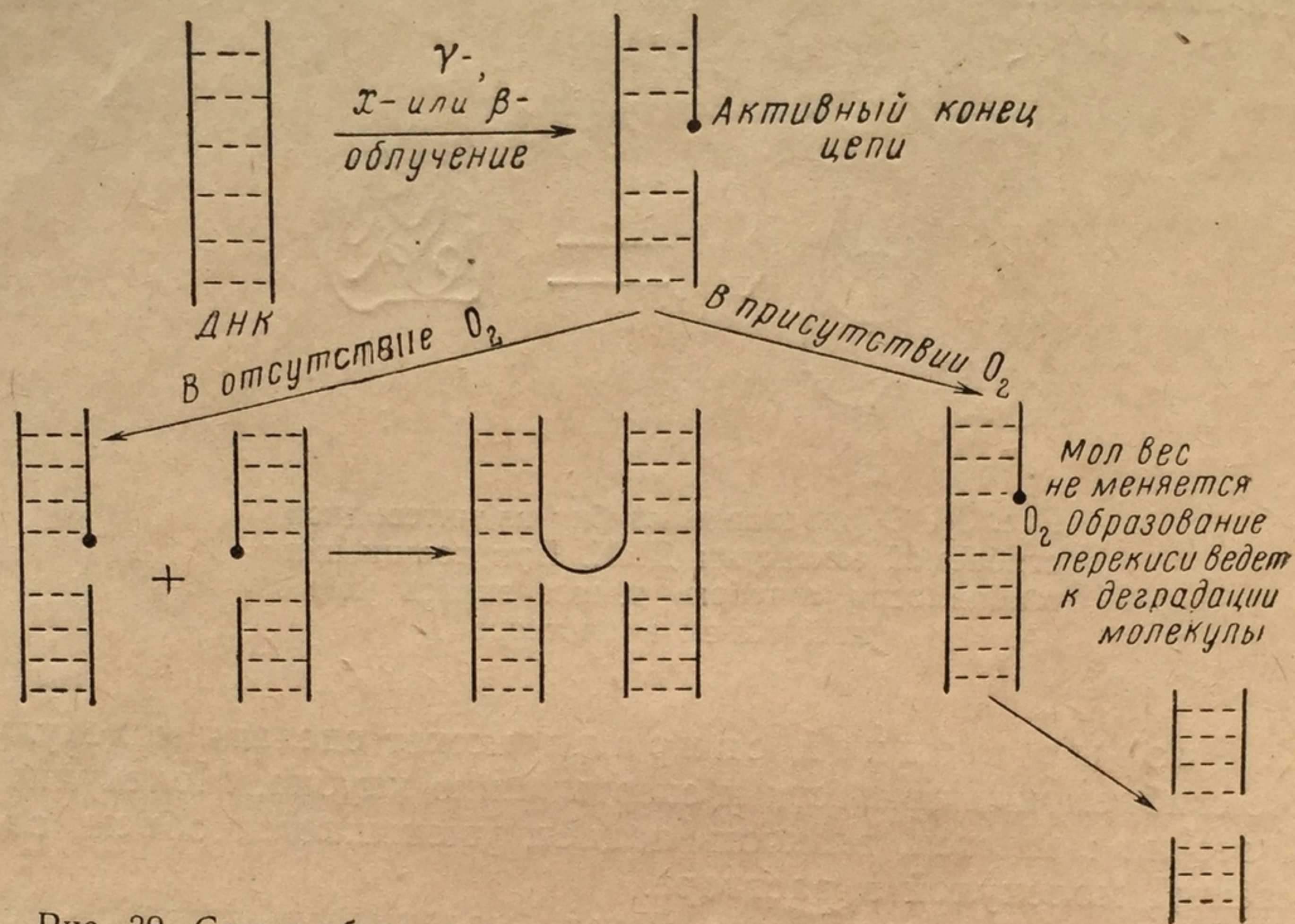


Рис. 39. Схема образования «сшивки» с увеличением молекулярного веса (роль кислорода)

Александр предполагает, что при разрыве нуклеотидной цепи образуется свободный конец, имеющий радикальный характер, который и может образовать «сшивку». В присутствии  $O_2$  активный конец образует перекисную группу и сшивки не происходит.

Свои соображения Александр [48] иллюстрирует схемой, изображенной на рис. 39.

Образование свободных радикалов в ДНК и РНК было обнаружено методом электронного парамагнитного резонанса после облучения сухих образцов ДНК и РНК дозой в 8 млн.  $r$  [49].

Свободные мононуклеотиды дают довольно широкие сигналы ЭПР со сверхтонкой структурой, общей шириной 50—100  $гс$ . Интенсивность сигнала при облучении в дозе  $2 \cdot 10^7$   $r$  соответствовала  $10^{18}$  парамагнитных частиц на 1  $г$  [50].

Нативные нуклеиновые кислоты дают узкие ( $\Delta H = 9$   $гс$ ) слабые синглетные сигналы с концентрацией парамагнитных частиц (при тех же дозах облучения)  $10^{16}$  на грамм [51]. Уменьшение радиационного выхода и уничтожение сверхтонкой структуры в нуклеиновых кислотах, по сравнению с нуклеотидами, авторы объясняют делокализацией неспаренных электронов по регулярной сетке водородных связей нуклеиновой кислоты с повыше-



нием вероятности рекомбинации неспаренных электронов с «дырками». Образующиеся радикалы нестойки в присутствии воды, что не дало возможности их обнаружить после облучения водных растворов ДНК и последующей ее лиофилизации.

Пикок с соавторами [52—54] на основании исследования кривых титрования ДНК до и после облучения предположили, что под влиянием  $\gamma$ -облучения происходит разрыв водородных связей между двумя нуклеотидными цепями. По его расчетам, один разрыв нуклеотидной цепи сопровождается разрывом 16 водородных связей, что должно приводить к расхождению спиралей в молекуле ДНК.

Батлер, повторяя эти исследования, заметил, что расхождение цепей в значительной мере зависит от концентрации NaCl, в растворе которого облучается ДНК [55], а Стручков и Стражевская в нашей лаборатории выяснили, что заметная лабилизация водородных связей наблюдается только при облучении частично деградированной ДНК с низким молекулярным весом, в то время как в нативной ДНК (молекулярный вес порядка 6—8 млн.) даже после облучения в дозах до 50 000 p расхождения цепей при обработке ее растворами мочевины не было обнаружено [27].

При исследовании изменения физико-химических свойств растворов ДНК под влиянием облучения большое внимание исследователей привлекал эффект последействия, легко обнаруживаемый при определении вязкости облученных растворов. Если раствор ДНК облучить большой дозой рентгеновских лучей, например 56 000 p, за короткий промежуток времени (10 мин.), то тотчас же после облучения удельная вязкость будет очень мало отличаться от контроля. Однако падение вязкости не прекращается после окончания облучения. Удельная вязкость продолжает падать в течение 8 час. после облучения и в результате резко отличается от исходной (рис. 40).

Аналогичные кривые наблюдаются как в водных, так и в солевых растворах (2%-ный NaCl). Скорость этих реакций, как и всяких химических изменений, зависит от температуры. При хранении облученного раствора при +5° падение вязкости оказывается несколько меньшим, чем при хранении при +25°.

Феномен последействия изучался многими исследователями (Вейсс, Шолс, Конвей, Батлер и другие [56—59]), было показано участие кислорода в этом явлении [56]. Вероятно, в момент

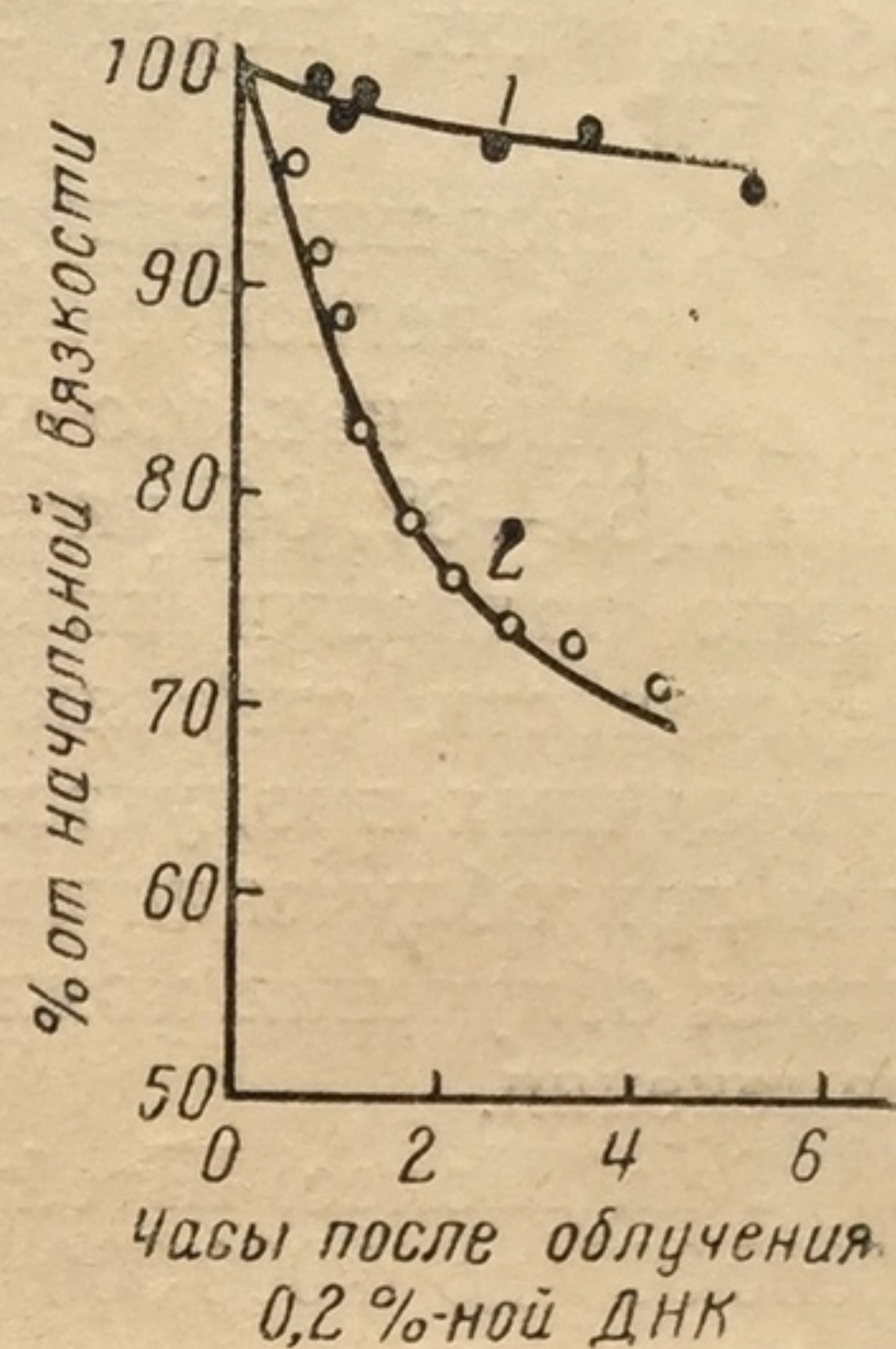


Рис. 40. Эффект последействия облучения  
1 — контроль; 2 — 10 мин. облучения при дозе 56 000 p



облучения ДНК ее углеводный компонент частично окисляется, связи фосфорных эфиров при этом становятся более лабильными, постепенно гидролизуясь в процессе последействия [57, 59]. Возможно, что проявление последействия является результатом образования перекисных соединений в облученной системе [58, 59].

Образование гидроперекисей в растворах ДНК, по-видимому, связано с легкой окисляемостью тимина по месту двойной связи в цикле, как это уже было разобрано выше. Ряд исследователей [60—62, 64] указывал на большую чувствительность к действию радиации пиримидиновых оснований, которые, по всей вероятности, окисляются и при облучении ДНК и РНК. Выход окисленных продуктов при облучении полимера заметно ниже, чем при облучении свободного основания [61, 62]. При больших дозах облучения можно наблюдать и более глубокие химические изменения.

Так, Шолес, Штейн и Вейс [64], применяя дозы облучения от 2 000 000 до 4 000 000 *p*, показали, что при этом образуется аммиак и увеличивается количество групп, определяемых по Ван-Слайку (табл. 17).

Таблица 17

Действие больших доз рентгеновых лучей ( $2 \cdot 10^6$  *p*) на нуклеиновые кислоты

Облучаемый раствор	Обнаружено аммиака в мМ на 100 мл			Увеличение содержания азота (кроме $\text{NH}_3$ ), определяемого по Ван-Слайку	Условия облучения
	в облучаемом растворе	контрольный опыт	выход		
1%-ный РНК	0,064	0,009	0,056	—	В вакууме На воздухе
То же	0,150	0,009	0,140	0,11	
2%-ный РНК	0,302	0,068	0,234	0,25	То же » »
0,5%-ный ДНК	0,089	0,000	0,089	0,05	

При облучении более разбавленных растворов нуклеиновых кислот (0,05%) можно обнаружить появление аммиака и при несколько меньших дозах. Результаты этих опытов представлены в табл. 18 [65].

Таблица 18

Образование аммиака при облучении разбавленных растворов нуклеиновых кислот (в мМ на 100 мл)

Доза, <i>p</i>	РНК в присутствии воздуха	ДНК		
		в воздухе	в вакууме	в атмосфере водорода
30 000	1,10	1,00	0,65	0,45
60 000	2,20	2,00	1,35	0,95
90 000	3,25	3,00	2,00	1,45

Уменьшение в вакууме и в атмосфере  
участии в процессе  
ных радикалов  
Увеличение на рас  
указывает на рас  
ния. Действитель  
поксантина и  
аминных групп.  
Применяя эле  
кислот, удалось  
кислоты и отдел  
нина и фосфорно  
адениловой кисл  
ных и фосфорны  
Сравнение сп  
формой кислоты  
дезоксирибонукл  
наибольшие изме  
зинтрифосфорной  
клеотида (рис.

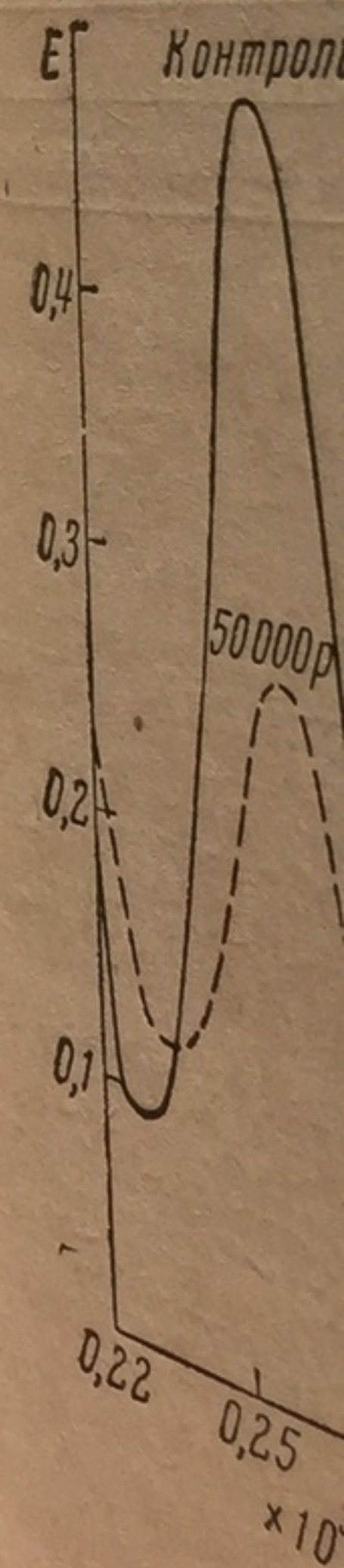


Рис. 41. Спектр аденина в нуклеиновых кислотах. А — аденозинтрифосфат.



Уменьшение выхода аммиака при облучении растворов в вакууме и в атмосфере водорода свидетельствует о вероятном участии в процессе дезаминирования нуклеиновых кислот свободных радикалов гидроксила или  $\text{HO}_2$ .

Увеличение аминных групп, определяемых по Ван-Слайку, указывает на раскрытие пуриновых циклов в процессе облучения. Действительно, облучение растворов аденина, гуанина, гипоксантина и ксантина всегда сопровождалось увеличением аминных групп.

Применяя электродиализ облученных растворов нуклеиновых кислот, удалось обнаружить появление свободной фосфорной кислоты и отдельных азотистых оснований. Образование аденина и фосфорной кислоты было также показано при облучении адениловой кислоты, что указывает на атакуемость гликозидных и фосфорных связей в нуклеотидах.

Сравнение спектров поглощения растворов аденозинтрифосфорной кислоты, дифосфопиридиннуклеотида и натриевой соли дезоксирибонуклеотида до и после облучения показывает, что наибольшие изменения наблюдаются в области  $2600 \text{ \AA}$  у аденозинтрифосфорной кислоты и наименьшие — у дезоксирибонуклеотида (рис. 41).

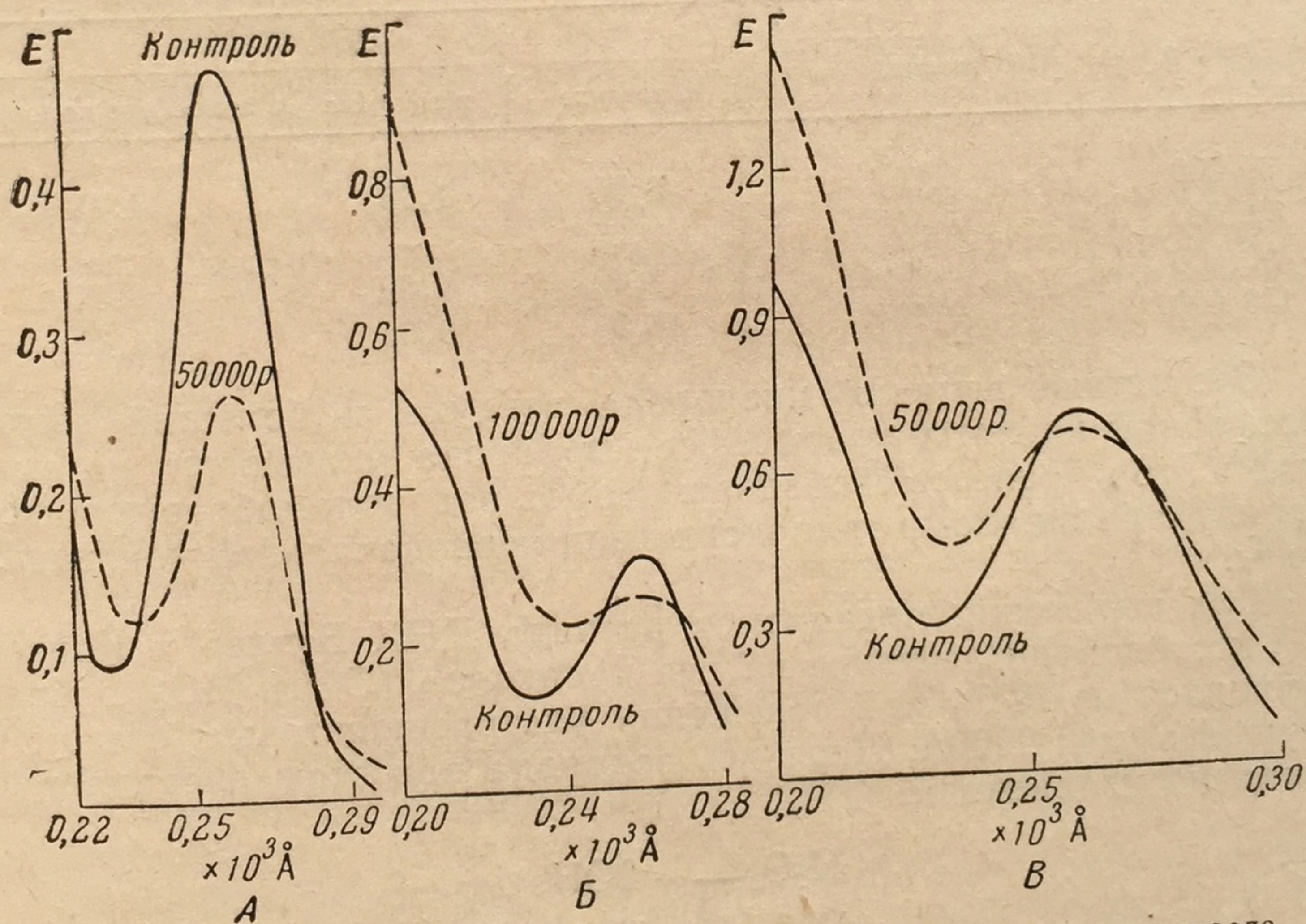


Рис. 41. Спектры адсорбции ДНК и продуктов ее распада до и после облучения  
 А — аденозинтрифосфорная кислота; Б — дифосфопиридиннуклеотид; В — дезоксирибонуклеиновый натрий (40 мг/мл)



Эти изменения характерны для аденинового остатка, наиболее легко, по-видимому, окисляющегося в аденозинтрифосфорной кислоте.

Подобно тому как присутствие других органических веществ часто оказывает «защитное» действие, реагируя с радикалами ОН, возникающими в процессе облучения, так и вхождение нуклеотида в состав высокомолекулярной нуклеиновой кислоты снижает атакуемость ядра аденина. Здесь «защитное» действие проявляют уже другие части макромолекулы. Не исключена возможность и пространственных затруднений, так как большая часть адениновых остатков может находиться «внутри» макромолекулы нуклеиновой кислоты и тем самым будет защищена от воздействия ОН-радикалов.

Распад РНК был показан Хенохом [66] при спектрофотометрическом исследовании 0,0025%-ных растворов. После их облучения  $\gamma$ -лучами  $\text{Co}^{60}$  наблюдалось заметное падение максимума поглощения (260 мкм) при дозе 79 000 р. При дозах этого же порядка отмечалось и отщепление свободной фосфорной кислоты как от ДНК, так и от РНК (табл. 19).

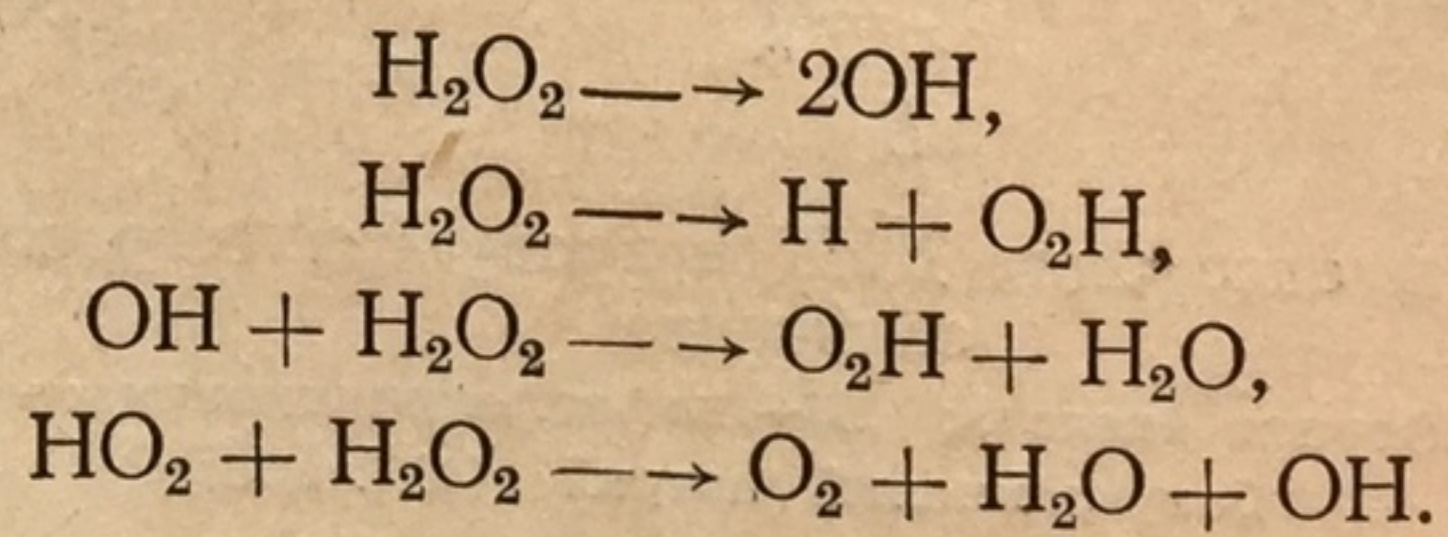
Таблица 19

Выход фосфорной кислоты при облучении нуклеиновых кислот (в  $\text{М} \cdot 10^6$  на 100 мл)

Доза, р	РНК в присутствии воздуха	ДНК		
		в воздухе	в вакууме	в атмосфере водорода
30 000	2,70	0,90	1,15	1,45
60 000	5,40	2,25	—	—
90 000	9,10	4,00	4,80	6,55
150 000	9,10	8,80	9,85	14,30

Отсутствие влияния кислорода воздуха и большой выход фосфорной кислоты в атмосфере водорода указывают на участие в этом процессе свободных атомов водорода, образующихся наряду с радикалами гидроксила при первоначальной ионизации воды.

Для выяснения механизмов распада ДНК Бутлер и Конвей [67] исследовали действие на нее радикалов (ОН и  $\text{HO}_2$ ), образующихся из  $\text{H}_2\text{O}_2$  при освещении ультрафиолетовым светом с длиной волны 2900 Å. Перекись водорода при этом распадается, согласно уравнениям:





Наблюдались следующие реакции:

1) дезаминирование, 2) дегидроксилирование, 3) разрыв связи сахар — основание, 4) окисление сахара и 5) разрыв нуклеотидных цепей и освобождение неорганического фосфора. Эти же реакции наблюдаются и при воздействии больших доз радиации.

\* \* \*

Суммируя современные знания о действии ионизирующей радиации на нуклеиновые кислоты *in vitro*, мы приходим к выводу, что в гигантской нативной высокополимерной молекуле ДНК сравнительно легко наступают изменения под влиянием как непосредственного попадания фотона или ионизирующей частицы в молекулу, так и под влиянием радикалов воды.

При прямом попадании достаточно одного — трех актов ионизации, чтобы огромная молекула ДНК распалась на две половины, утратив при этом свою биологическую активность [68, 69].

В водных растворах далеко не все акты ионизации оказываются эффективными, однако одного или нескольких радикалов, взаимодействующих с молекулой ДНК, по-видимому, достаточно, чтобы привести к существенным изменениям ее конфигурации и связанных с нею биологических свойств.

Как в случае прямого, так и непрямого действия радиации возникающее радикальное состояние (неспаренные электроны), мигрируя по упорядоченной структуре ДНК, наиболее легко проявляется в присутствии кислорода и воды в определенных частях молекулы. Есть основания предполагать, что это двойные связи пиримидиновых циклов или сахара нуклеотидной цепи.

Образование в этих местах перекисного радикала приводит или к разрыву нуклеотидной цепи (окисление сахара и нарушение фосфорной связи), или (в случае окисления пиримидинового цикла) к дезорганизации правильной структуры двойной спирали. И то и другое изменит жесткость, сгибаемость молекулы, т. е. приведет к изменению ее первоначальной конфигурации. Это изменение прежде всего скажется в распаде тех надмолекулярных структур, в виде которых находится ДНК в живой функциональной клетке. Распад этих надмолекулярных структур — первое, что удастся наблюдать при сравнительно небольших дозах радиации. Изменение жесткости молекулы приведет и к изменениям вязкости растворов, также наиболее легко обнаруживаемых.

Эти начальные изменения способствуют более легкому дальнейшему распаду ДНК при кислотном и ферментативном гидролизе [70]. При больших дозах облучения, а также при действии плотноионизирующей радиации возрастает вероятность двойных разрывов с распадом двойной спирали ДНК и уменьшением молекулярного веса.



При очень больших дозах и в отсутствие кислорода, как отмечалось выше [48], вероятно образование «сшивок» (при облучении сухой ДНК или ее концентрированных растворов) с образованием нерастворимого геля. При этих больших дозах делаются заметными и такие химические изменения, как отщепление аммиака (дезаминирование), распад пуриновых оснований.

Для понимания радиобиологических процессов, конечно, наибольший интерес имеет первоначальное изменение конфигурации макромолекул ДНК, наблюдаемое уже при дозах порядка 500—1000  $r$ , которое мы обсудим более подробно в главе 10.

\* \* \*

Действие ионизирующей радиации на другие сложные белки: липопротеиды, глюкопротеиды, хромопротеиды изучено далеко не так полно.

Пасынский исследовал влияние ионизирующей радиации на липопротеиды сыворотки крови лошади [5]. Даже при дозах в 750 000  $r$  (2%-ный раствор липопротеида) не удавалось обнаружить изменения вязкости раствора и количества экстрагируемых эфиром веществ. Только при дозах в 1 200 000  $r$  можно было наблюдать незначительное повышение вязкости (на 1,06%), увеличение экстрагируемого холестерина (с 1,24 до 1,8%) и жирных кислот (с 2,1 до 2,9%). Электрофоретическое исследование не смогло обнаружить изменения в липопротеиде даже после облучения 2%-ного раствора при дозе в 1 000 000  $r$ .

Изменение сорбируемости метионина, меченного  $S^{35}$ , можно было заметить при дозах 50 000  $r$  и отчетливо наблюдать в интервалах 150—500 тыс.  $r$ .

Все эти данные говорят о сравнительной радиоустойчивости исследованных липопротеидов при облучении.

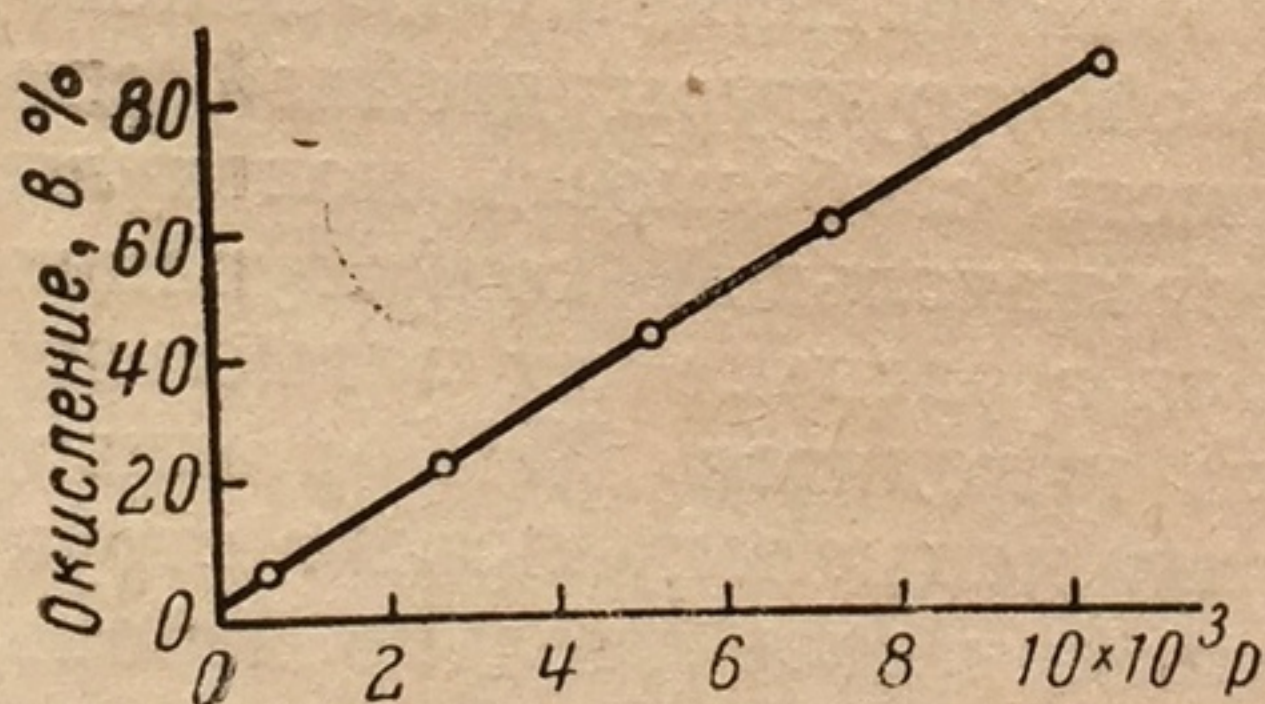


Рис. 42. Окисление цитохрома  $c$  в растворе 0,005 М фосфата (рН 7,0) при облучении (цитохром  $1,6 \cdot 10^{-5}$  М)

При облучении хромопротеидов удалось обнаружить обратимое окисление хромофора, а при больших дозах — необратимые денатурационные изменения белкового компонента.

Баррон [71] подробно исследовал цитохром  $c$ . Как известно, цитохром  $c$ , играя существенную роль в окислительно-восстановительных процессах,

так же как и гемоглобин, относится к сложным белкам с порфириновым ядром в качестве простетической группы.

Восстановленный цитохром  $c$  окисляется при облучении рентгеновыми лучами (рис. 42).



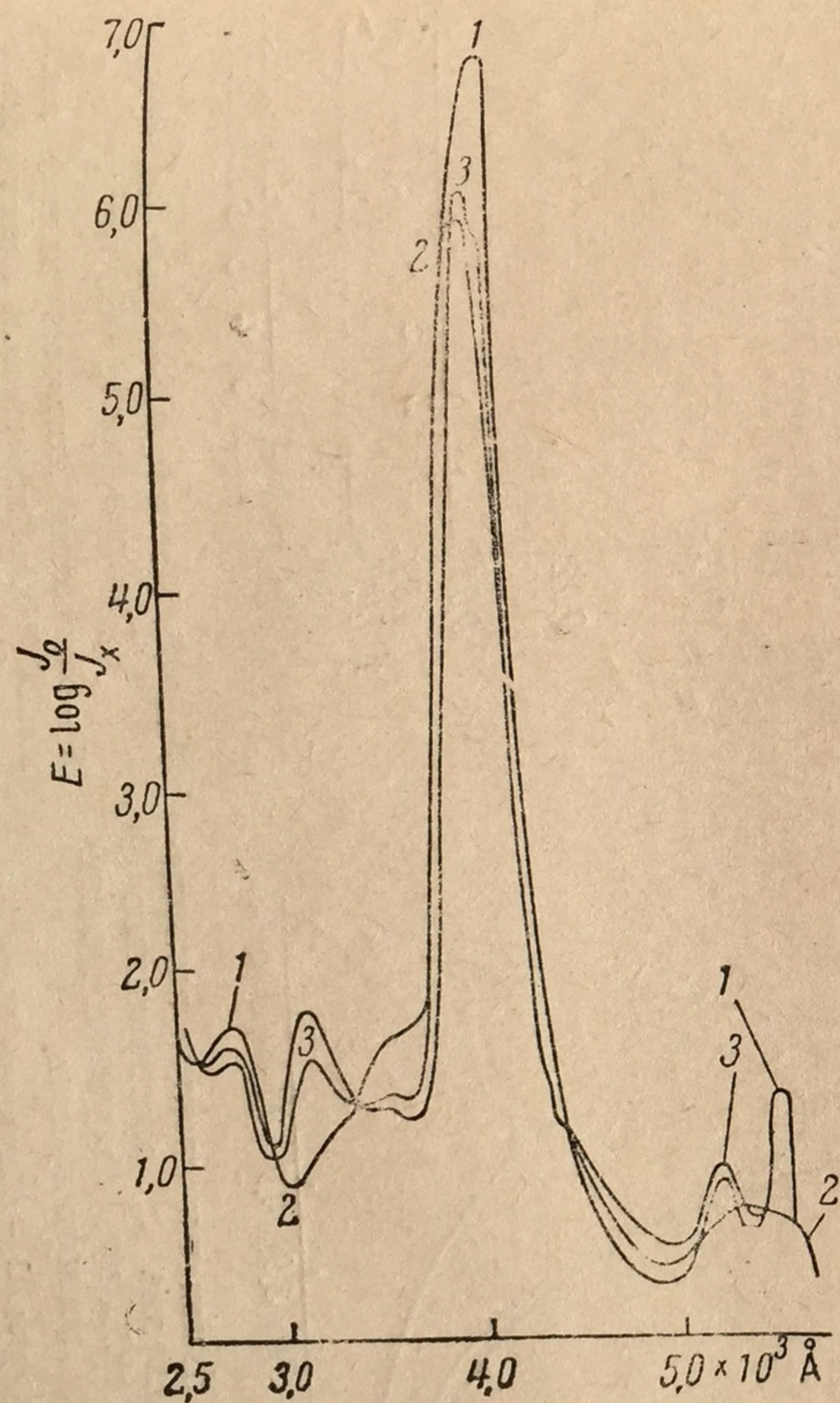


Рис. 43. Спектры поглощения цитохрома с до и после облучения  
 1 — контроль; 2 — после облучения дозой 10 000 p; 3 — после облучения дозой 10 000 p и восстановления  $\text{Na}_2\text{SO}_4$

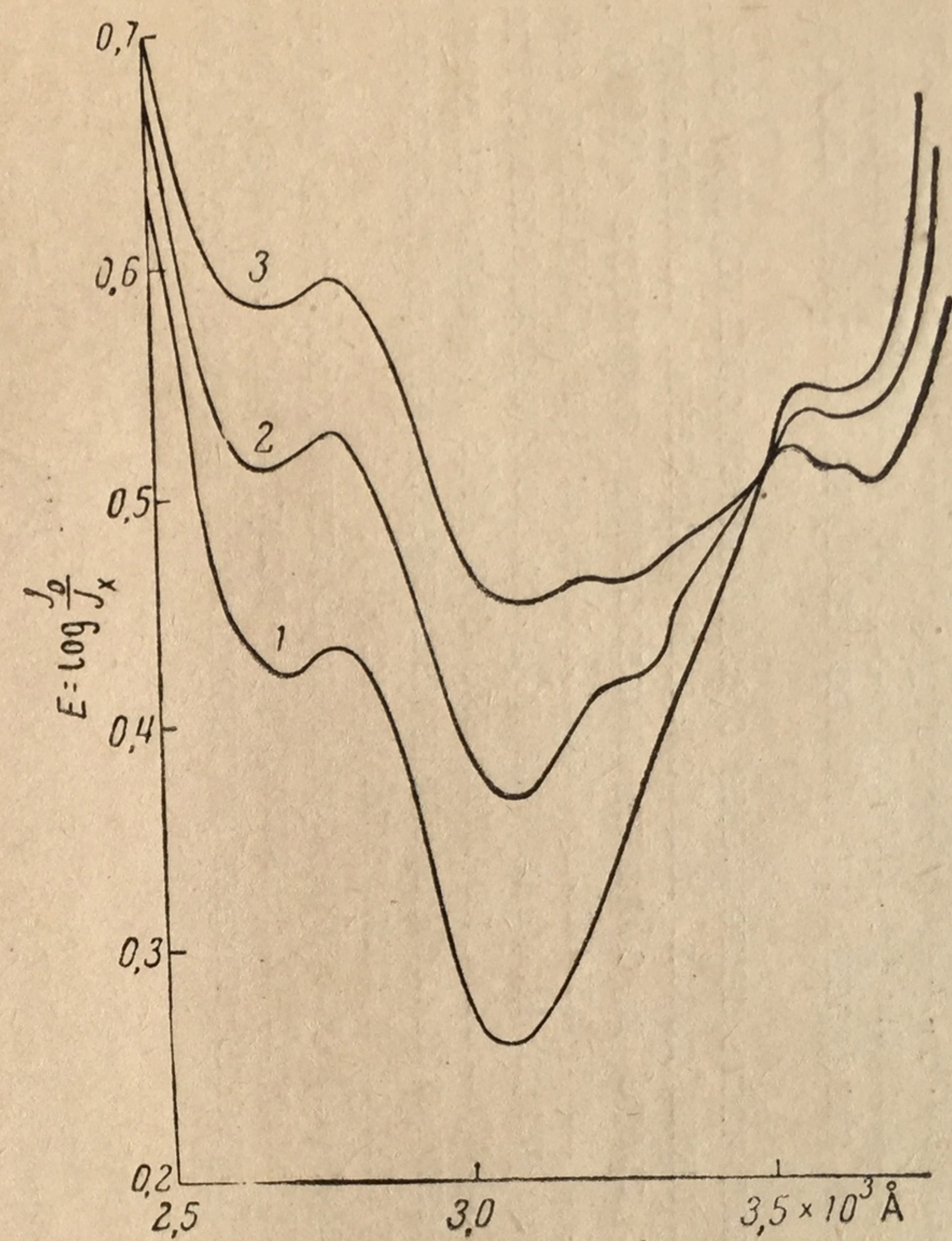


Рис. 44. Влияние облучения рентгеновыми лучами на белок цитохрома с, растворенного в 0,005 M NaOH  
 1 — контроль; 2 — облучение 50 000 p; 3 — облучение 100 000 p



При этом происходит только обратимое окисление железа, что видно из данных спектрофотометрического исследования облученных растворов и растворов, вновь восстановленных гидросульфитом натрия (рис. 43). Окисление  $\text{Fe}^{++}$  осуществляется, по-видимому, исключительно радикалами  $\text{OH}\cdot$ , так как на ионный выход этой реакции (0,55) не оказывают влияния ни присутствие каталазы, ни исключение из системы кислорода воздуха.

Белковая часть цитохрома *c* изменяется только при значительно больших дозах. Наибольшие изменения наблюдаются в щелочной среде в области поглощения тирозина (2800 Å) (рис. 44): в нейтральной и кислой средах эти изменения выражены менее резко. Изменения в порфириновом цикле зависят также от pH среды. Так, поглощение при 4100 Å резко снижается при облучении в кислой среде и изменяется только незначительно в нейтральной и щелочной (рис. 45).

Эплейерд [72] облучал сухой карбоксигемоглобин в вакууме быстрыми дейтронами (циклотрон — вакуум  $10^{-5}$  мм Hg). В результате облучения кривая растворимости падала (рис. 46), бла-

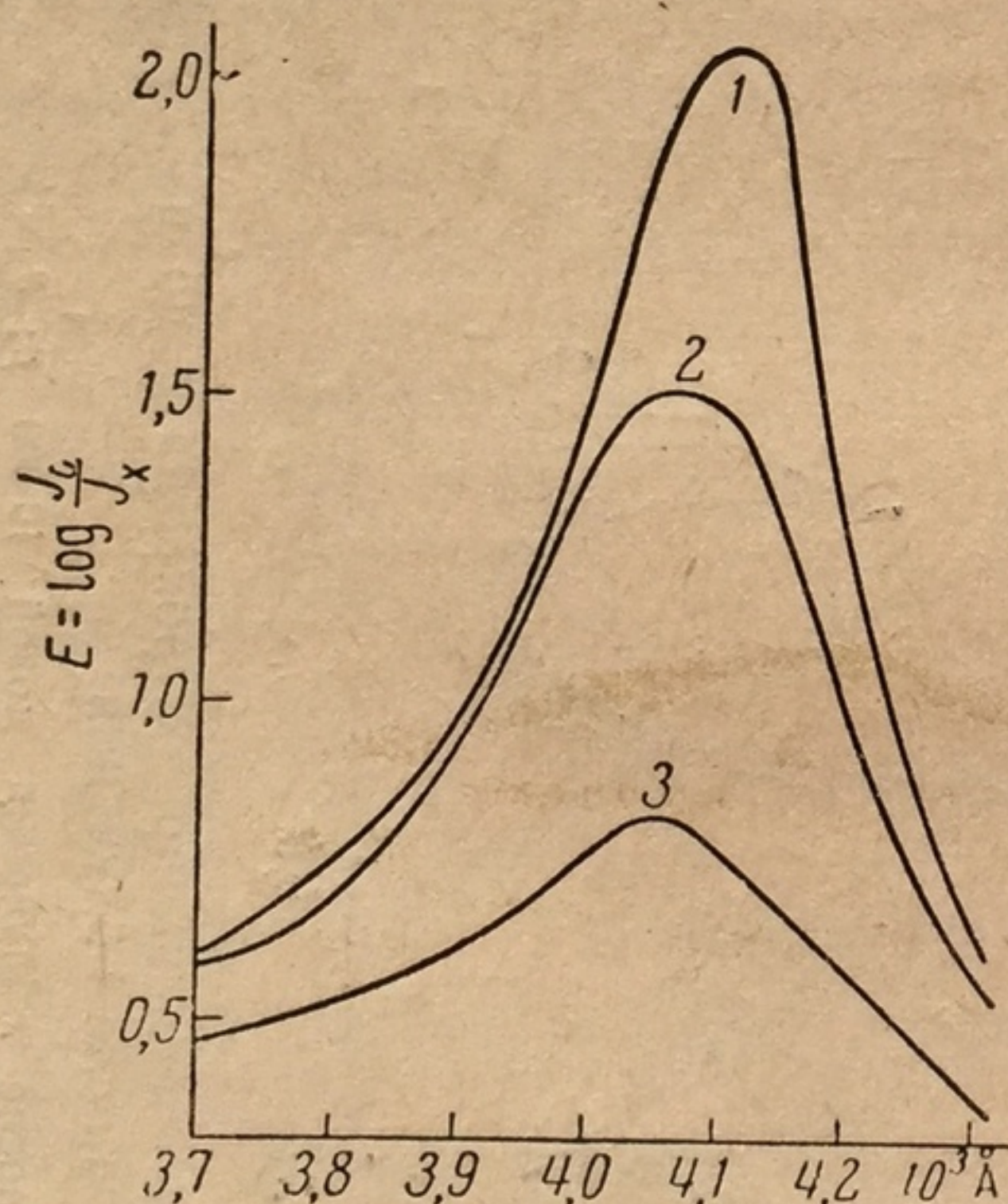


Рис. 45. Изменение спектра поглощения цитохрома *c*, растворенного в 0,005 М HCl, при облучении рентгеновыми лучами

1 — контроль; 2 — облучение 50 000 р;  
3 — облучение 100 000 р

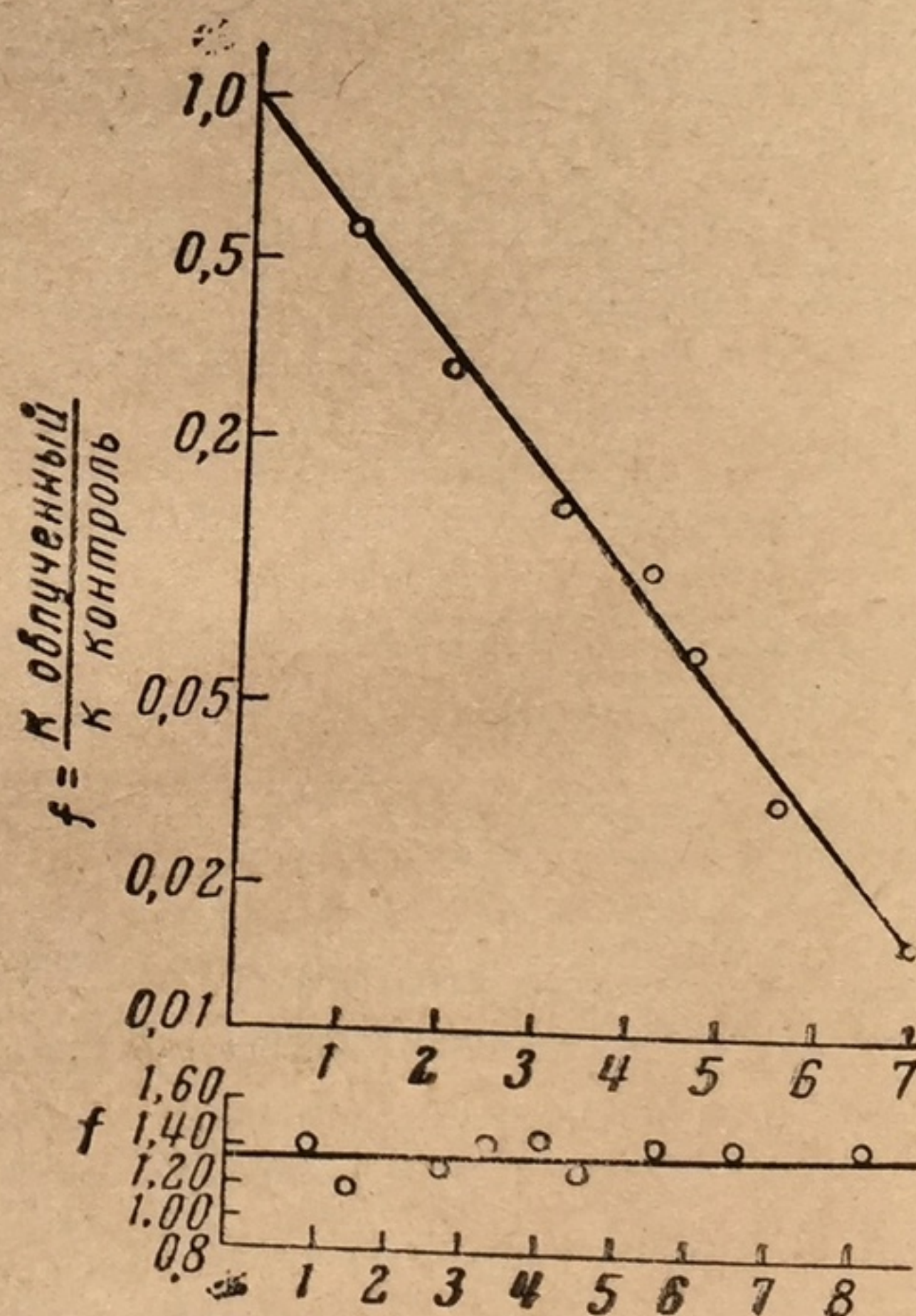


Рис. 46. Растворимость карбоксигемоглобина после облучения

$K$  — оптическая плотность в пике поглощения. Ниже помещается кривая распада гема после перевода его в раствор. По оси абсцисс — поток дейтронов для гомогенных растворов в 1 н. HCl на  $1 \text{ см}^2$

# ЛИТЕРАТУРА

1. А. Н. С.
2. G. Butl
3. Н. Roz
4. Е. В. Б
5. А. Г. П
6. N. G. A
7. М. Н. В
8. W. Fis
9. J. A. V.
10. В. Р. К
11. W. D. I
12. N. G. A
13. К. Мо
14. L. J. C
15. Е. В. B
16. В. Та
17. А. М.
18. L. F. C
19. J. A. V
20. А. N
21. Н. Е
22. R. M.
23. F. M.
24. П. И
25. К. S
26. Г. П
27. В. А



годаря нерастворимости белка в изоэлектрической точке. Гем, переведенный в раствор при других рН (1 н. HCl), оказывался совершенно неизменным.

Изменение белковой молекулы при облучении в сухом состоянии и глубоком вакууме свидетельствует о ее первичной ионизации, вероятнее всего, происходит разрыв пептидных связей. По-видимому, энергия первичной ионизации достаточна для того, чтобы разорвать несколько слабых, но существенных для растворимости связей в молекуле белка.

Неизменность гема можно объяснить наличием конъюгированной системы. Нарушение электронов не локализовано, а растекается по кругу. Абсорбируемая энергия моментально деградирует по всему кругу и оказывается малоэффективной. Конъюгированные системы, как правило, не нарушаются при облучении в процессе которого имеются электронные сдвиги и ионизация.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. A. H. Sparrow, F. M. Rosenfeld. *Science*, **104**, 245, 1946.
2. G. Butler. *Canada. J. Res.*, **27**, 13, 972, 1949.
3. H. Rozendall, W. Bellamy, T. Baldwin. *Nature*, **168**, 694, 1951.
4. Е. В. Будилова, А. М. Кузин. *Биофизика*, **2**, 476, 1957.
5. А. Г. Пасынский. Сессия АН СССР по мирному использованию атомной энергии. М., 1955, стр. 85.
6. N. G. Anderson. *Federat. Proc.*, **13**, 3, 1954.
7. M. H. Bernstein. *Nature*, **174**, 463, 1954.
8. W. Fischer, N. G. Anderson, K. M. Wilbur. *Exp. Cell Res.*, **18**, 100, 1959.
9. J. A. V. Butler. *Radiation Res.*, **4**, 20, 1956.
10. B. P. Kaufman, M. R. McDonald, M. H. Bernstein. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **59**, 553, 1955.
11. W. D. Fisher, C. L. Burger. *Exp. Cell Res.*, **22**, 9, 1961.
12. N. G. Anderson, W. D. Fisher. *Exp. Cell Res.*, **22**, 13, 1961.
13. К. Монти. В кн.: *Химические основы наследственности*. М., ИЛ, 1960; стр. 441; *J. Biophys. a. Biochem. Cytol.*, **1**, 139, 1955.
14. L. J. Cole, M. E. Ellis. *Radiation Res.*, **3**, 219, 1955; **5**, 252, 1956.
15. Е. В. Моисеенко. *Радиобиология*, **1**, № 4, 479, 1961.
16. B. Taylor, G. Greenstein, A. Hollaender. *Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol.*, **12**, 237, 1947; *Arch. Biochem.*, **16**, 19, 1948.
17. А. М. Кузин, Е. В. Будилова. *Биофизика*, **1**, 57, 1956.
18. L. F. Cavalieri, O. Baturay, M. L. Eidinoff, L. M. Sharp. *Radiation Res.*, **3**, 2, 218, 1955.
19. J. A. V. Butler, K. A. Smith. *J. Chem. Soc.*, 3411, 1950.
20. A. Norman, J. A. Field. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **71**, 170, 1957.
21. H. Ephrussi-Taylor, R. Latarjet. *Biochim. et biophys. acta*, **16**, 183, 1955.
22. R. M. Drew. *Radiation Res.*, **3**, 116, 1955.
23. F. M. De Filippes, W. R. Guild. *Radiation Res.*, **11**, 38, 1959.
24. П. И. Цейтлин, Д. М. Спитковский, В. С. Тонгур. В сб.: *Нуклеиновые кислоты и нуклеопротейды*. М., 1961, стр. 68.
25. K. S. Kirby. *Biochem. J.*, **70**, 260, 1958.
26. Г. П. Георгиев. *Биохимия*, **24**, 472, 1959.
27. В. А. Стручков, А. М. Кузин, Н. Б. Стражевская. В сб.: *Нуклеиновые кислоты и нуклеопротейды*. М., 1959, стр. 46.



28. А. М. Кузин, В. А. Стручков, Н. Б. Стражевская. Докл. АН СССР, 130, 4, 895, 1960.
29. P. F. Davidson. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 45, 1510, 1959.
30. C. A. J. Thomas, A. T. J. Matheson. Mol. Biol., 2, 5, 1960.
31. A. D. Hershey, E. Burgi. J. Mol. Biol., 2, 143, 1960.
32. P. F. Davidson, Nature, 185, 918, 1960.
33. Г. П. Георгиев, В. А. Стручков. Биофизика, 5, 745, 1960.
34. В. А. Стручков. V междунар. биохим. конгресс. Рефераты секционных сообщ., I, 192, 1961.
35. В. А. Стручков, Н. Б. Стражевская. Радиобиология, I, 172, 1961.
36. В. А. Стручков, Джоун-Хе, Н. Б. Стражевская. Биофизика, 8, 1963 (в печати).
37. А. Г. Пасынский, А. М. Тонгур. Высокомолекулярные соединения, 2, 1, 1962.
38. W. R. Guild, F. M. De Filippes. Biochim. et biophys. acta, 26, 241, 251, 1957.
39. G. Limperos, W. Mosher. Amer. J. Rentgenol., 63, 681, 691, 1950.
40. М. И. Мекшенков. Радиобиология, 2, 3, 1962.
41. T. D. Watson, F. C. H. Crick. Nature, 171, 737, 1953.
42. K. V. Shooter. Progr. Biophys. a. Biophys. Chem., 8, 310, 1957.
43. P. Doty. J. Cellular a. Compar. Physiol., 49, 27, 1957.
44. P. Alexander, J. T. Lett, H. Moroson, K. A. Stacey. Immediate and low level effects of ionizing radiations. 1959, p. 47.
45. P. Alexander, J. T. Lett, H. Moroson, K. Stacey. Internat. J. Radiobiol., Suppl. 1, 47, 1960.
46. P. Alexander, J. T. Lett. Nature, 187, 933, 1960.
47. P. Alexander, K. Stacey. Nature, 184, 958, 1959.
48. P. Alexander. В кн.: The initial effects of ionizing radiations on cells. London, 1961, p. 14.
49. W. Gordy. Rad. Res., Suppl., 1, 491, 1959.
50. Шен Пей-гэнь, Л. А. Блюменфельд, А. Э. Калмансон, А. Г. Пасынский. Биофизика, 4, 263, 1959.
51. Л. А. Блюменфельд, А. Э. Калмансон, Шен Пей-гэнь. Докл. АН СССР, 124, 1144, 1959.
52. W. A. Lee, A. R. Peacocke. J. Chem., Soc., 3374, 1951.
53. R. A. Cox, W. G. Overend, A. R. Peacocke, S. Wilson. Nature, 176, 919, 1955.
54. A. R. Peacocke, B. N. Preston. J. Polymer Sci., 31, 1, 1958.
55. J. A. V. Butler. Radiation Res., Suppl. 1, 403, 1959.
56. J. A. V. Butler, B. E. Conway. J. Chem. Soc., 3418, 1950.
57. G. Scholes, J. Weiss. Nature, 171, 920, 1153, 1953.
58. B. E. Conway. Brit. J. Radiol., 27, 42, 1954.
59. G. Scholes, J. Weiss, C. M. Wheeler. Nature, 178, 157, 1956.
60. G. Barron, P. Johnson, A. Coburn. Radiations Res., 1, 410, 1954.
61. Т. Н. Рысина, Р. Е. Либинзон. Биофизика, 3, 487, 1958.
62. А. В. Савич, М. И. Шальнов. Радиобиология, I, 23, 1961.
63. G. Scholes, J. F. Ward, J. Weiss. J. Mol. Biol., 2, 379, 1960.
64. G. Scholes, G. Stein, J. Weiss. Nature, 164, 709, 1949.
65. G. Scholes, J. Weiss. Biochem. J., 53, 567, 1953.
66. М. А. Хенох. Диссертация. Л., 1959.
67. J. A. Butler, B. E. Conway. Proc. Roy. Soc., A, 141, 562, 1953.
68. P. Alexander, K. A. Stacey. В кн. «Progress in Radiobiol.», Edinburgh, 1956, p. 105.
69. D. Fluke, R. Drew, E. Pollard. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 38, 180, 1952.
70. J. A. V. Butler, P. Simson. Liège Radiobiology Sympos., 1954, p. 46.
71. G. Barron. The basic aspects of radiation effects on living systems. N. Y., 1952, p. 220.
72. A. Appleyard. Arch. Biochem. a. Biophys., 35, 121, 1952.



## ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА УГЛЕВОДЫ

Углеводы являются постоянной составной частью активно-метаболизирующих тканей, играют определенную роль в построении клеточных оболочек и являются существенным компонентом пищевых продуктов. Поэтому интересно проследить, как влияет на углеводы облучение для понимания общебиологического действия радиации на живые организмы, а также для разрешения таких важных практических вопросов, как лучевая стерилизация пищи, использование радиации для повышения сохранности плодов и овощей, применение радиации для ускорения технологических процессов при переработке сельскохозяйственного сырья.

### Действие ионизирующей радиации на простые сахара

В ранних работах [1, 2] изучалось влияние лучей радиации на растворы глюкозы и фруктозы и было показано, что под влиянием облучения концентрация сахара падала, кислотность повышалась и в растворе появлялся формальдегид.

В более поздних работах Хеноха [3] аналогичные изменения наблюдались под влиянием  $\gamma$ -лучей  $\text{Co}^{60}$ , причем для глюкозы и фруктозы отмечено не только образование формальдегида, но и деструкция молекул, приводящая к появлению веществ с максимумом поглощения в ультрафиолетовой части спектра при 264—265 мкм и минимумом при 232 мкм. Образование оптически активных веществ и накопление формальдегида более резко выражено у фруктозы по сравнению с глюкозой при одних и тех же дозах облучения ( $1,5-7,5 \times 10^{19}$  эв/мл на 0,1 М раствор сахаров), что наглядно видно из рис. 47 [3]. Уолфром с сорудниками [4] облучали сухую  $\alpha$ -D-глюкозу и  $\beta$ -D-фруктозу катодными лучами (50 Мр) и отметили падение редуцирующих свойств и понижение «сладости» у облученных сахаров.



Все приведенные результаты говорят об окислении простых сахаров, которое происходит, по-видимому, с распадом углеродной цепи и приводит к образованию кислот, формальдегида и эндиолов, дающих максимум поглощения при 265 мкм.

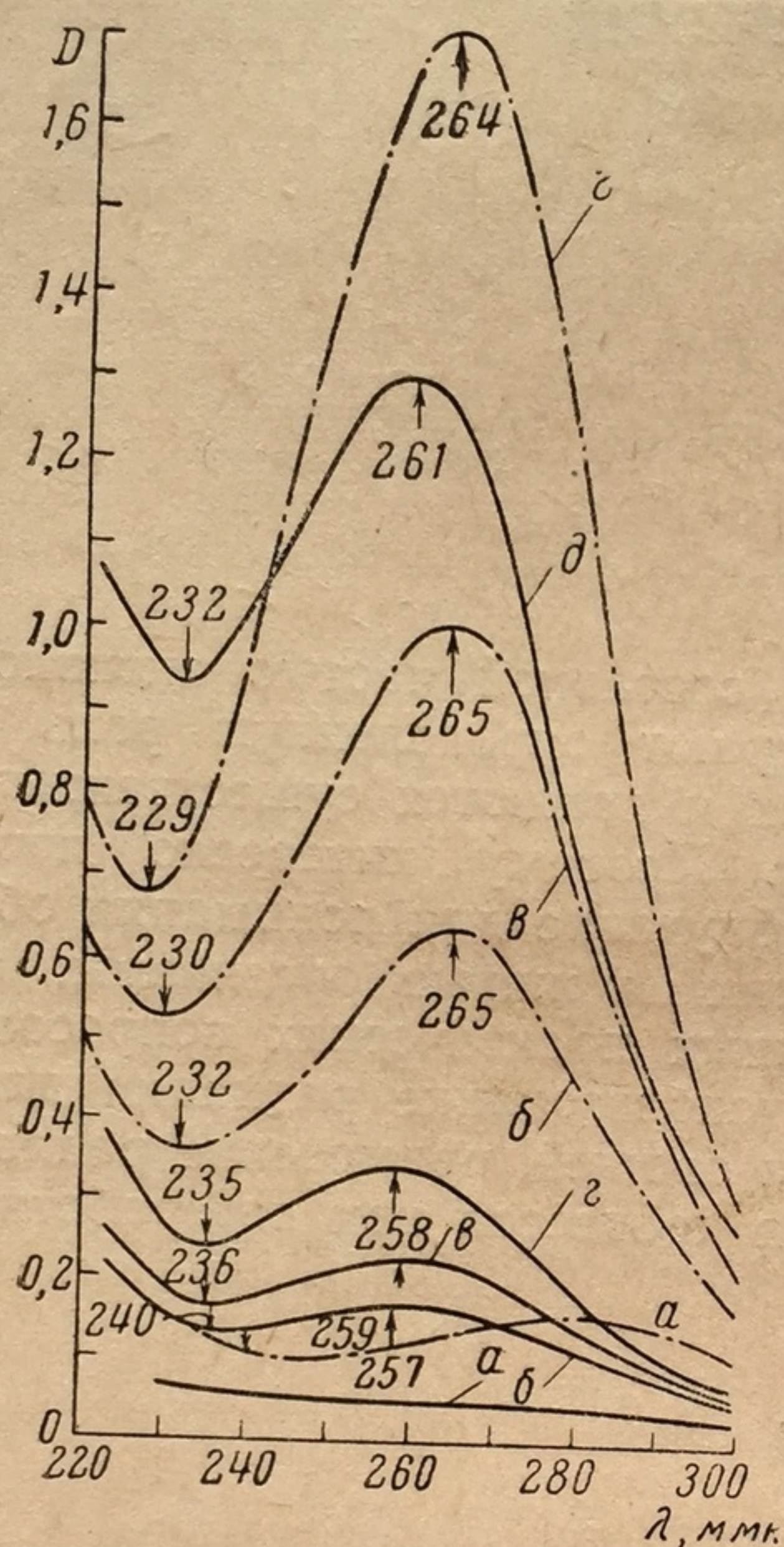


Рис. 47. Кривые поглощения растворов глюкозы (сплошные) и фруктозы (прерывистые)

Глюкоза: а — необлученная; б — облученная дозой  $208 \cdot 10^3$  p; в — облученная дозой  $370 \cdot 10^3$  p; г — облученная дозой  $767 \cdot 10^3$  p; д — облученная дозой  $2000 \cdot 10^3$  p.  
Фруктоза: а — необлученная; б — облученная дозой  $130 \cdot 10^3$  p; в — облученная дозой  $210 \cdot 10^3$  p; г — облученная дозой  $468 \cdot 10^3$  p; мощность дозы 50 p/мин

При облучении разбавленных растворов окисление идет в основном за счет радикалов воды, так как продукты реакции близки к тем, которые появляются при действии реактива Фентона. Это особенно отчетливо было прослежено при облучении шестиатомных спиртов — маннита и сорбита [4].

При облучении водных растворов этих спиртов (2,0 M раствор, катодные лучи 4 Mr) происходят реакции окисления, представленные на стр. 91.

Такие же схемы были предложены и в более ранних работах Филлипса [5].

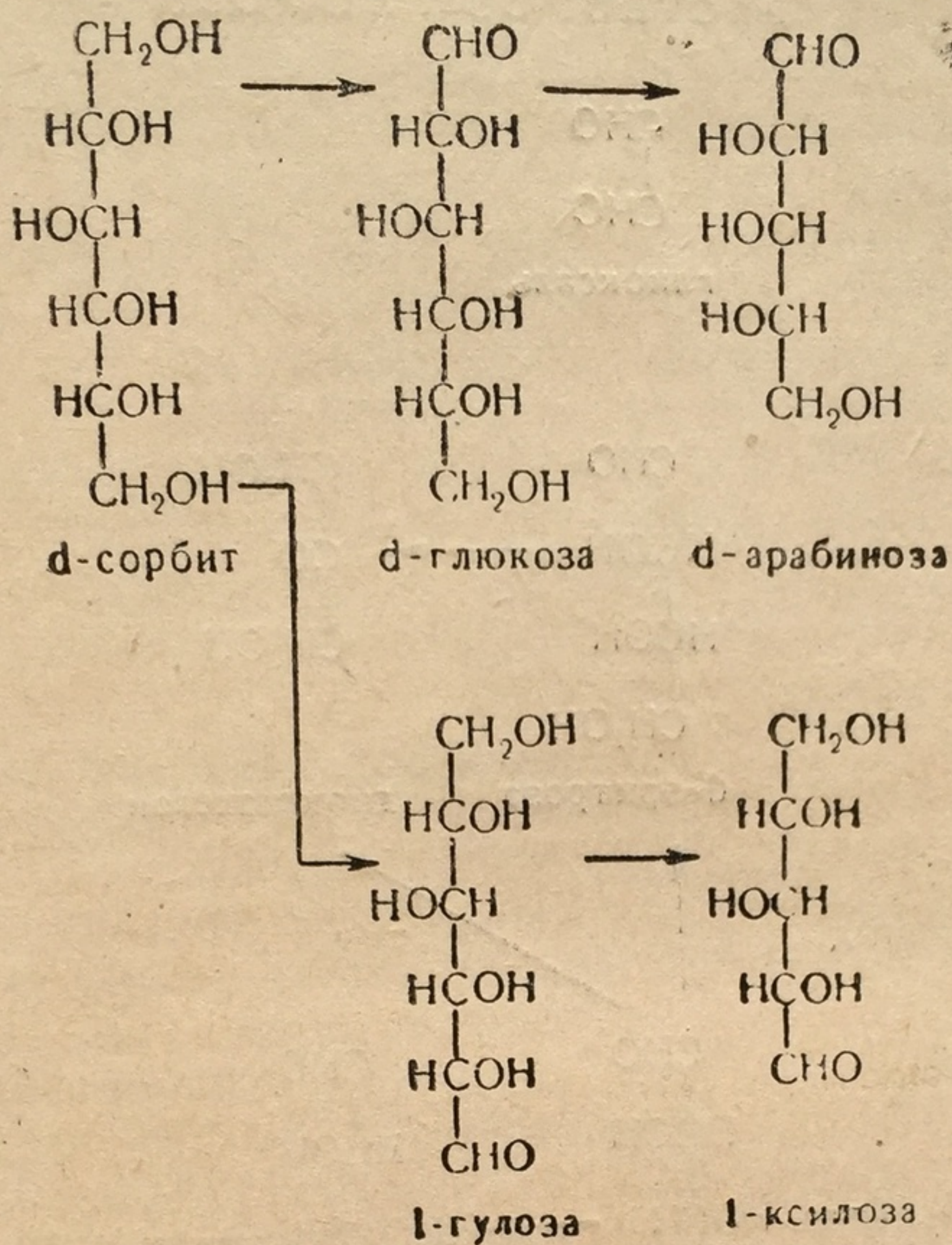
Все указанные вещества были идентифицированы методом хроматографии. Интересно отметить, что маннуриновая кислота образуется только при больших дозах облучения (100 Mr).

Повышение кислотности при облучении глюкозы, наряду с малым изменением редуцирующей способности, также говорит

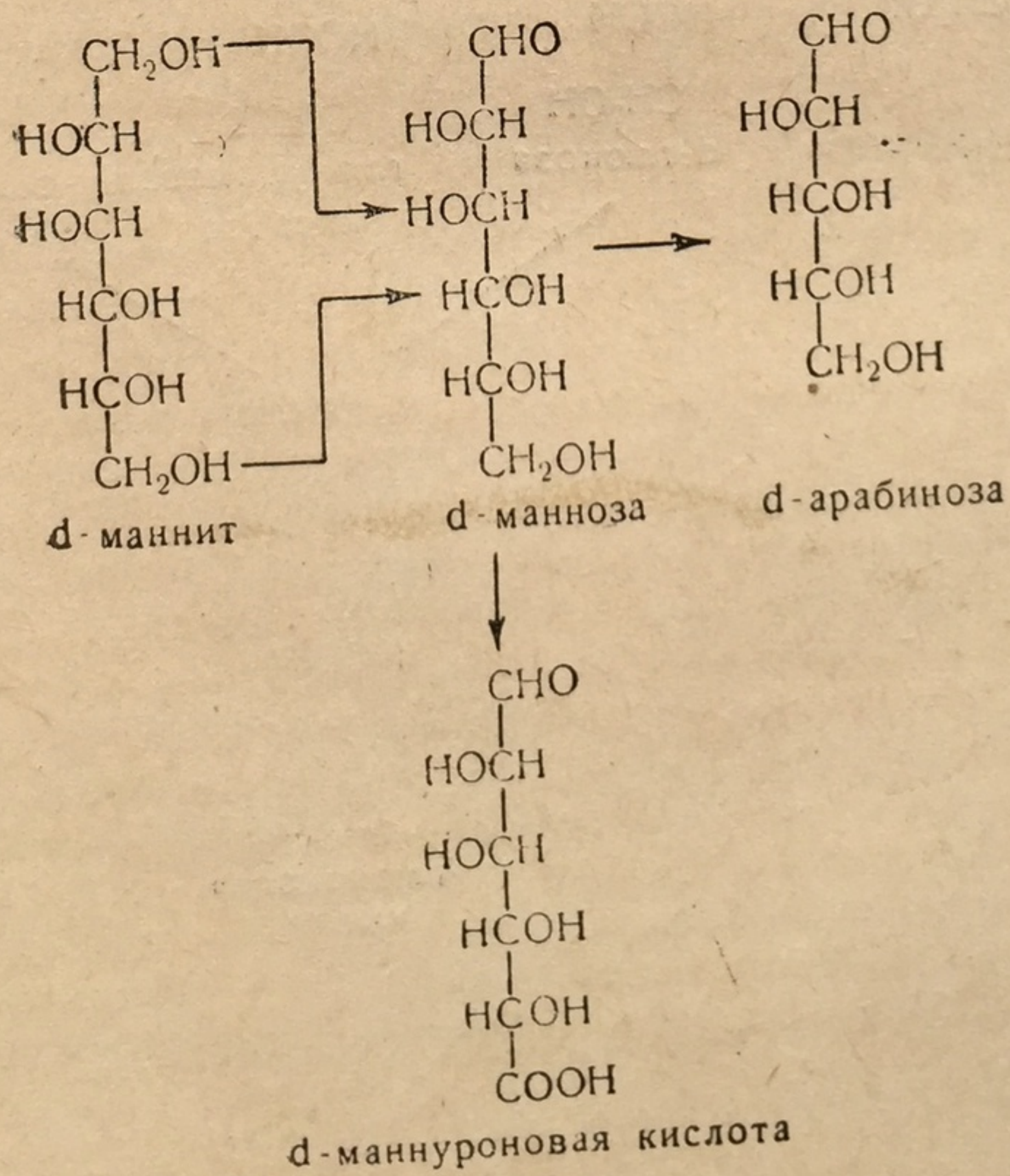


# РЕАКЦИИ ОКИСЛЕНИЯ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ РАСТВОРОВ.

сорбита

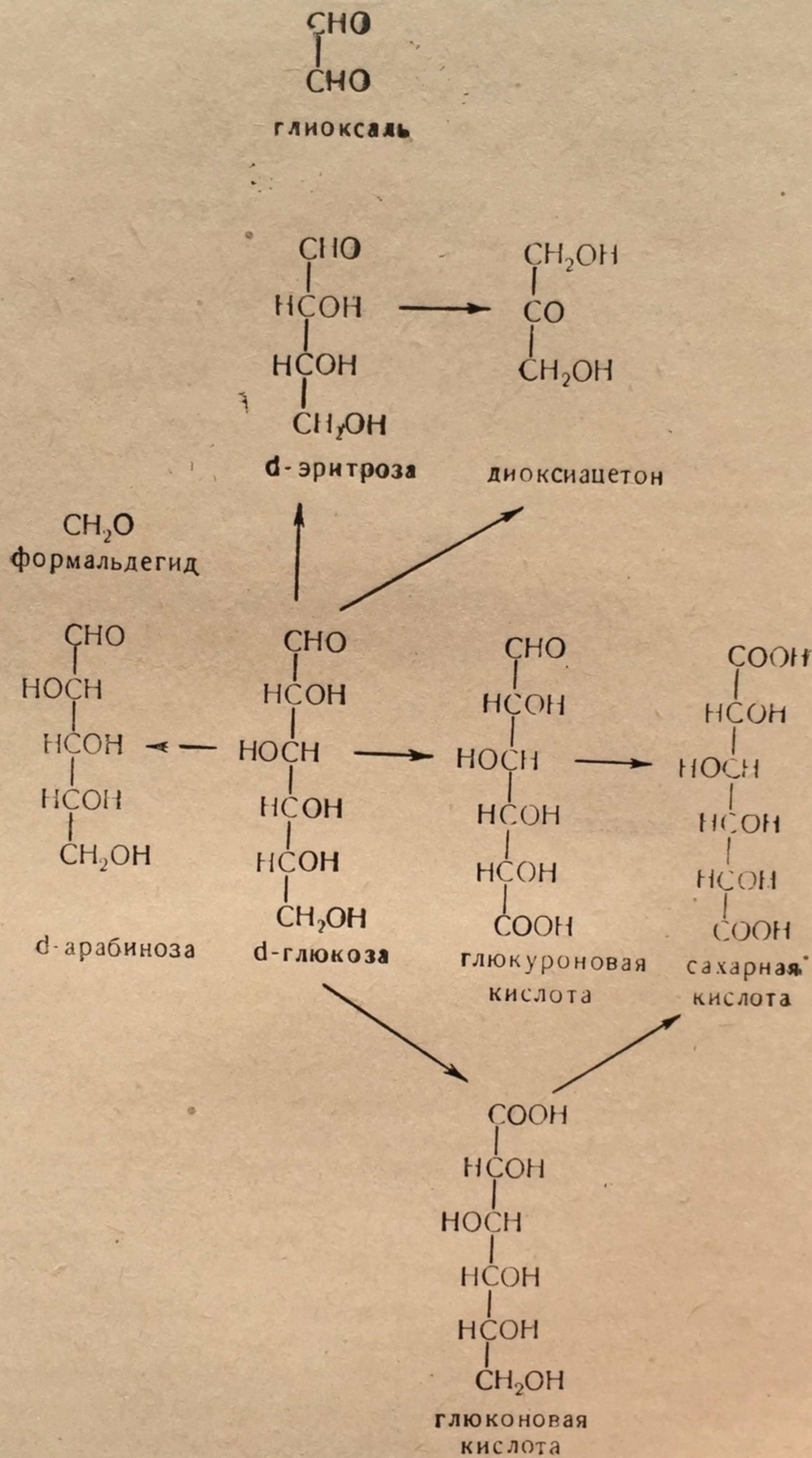


маннита





# РЕАКЦИЯ ОКИСЛЕНИЯ ПРИ ОБЛУЧЕНИИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ ГЛЮКОЗЫ





одных  
об образовании глюкуроновой кислоты, впервые идентифицированной в разбавленных водных растворах глюкозы после облучения быстрыми электронами с энергией 1 Мэв [5]. Среди продуктов превращения глюкозы под влиянием облучения методом хроматографического анализа и изотопного разведения, а также спектрофотометрически были обнаружены: глюкуроновая, глюконовая и сахарная кислоты, глиоксаль, арабиноза, эритроза, формальдегид и диоксиацетон [3, 5, 6]. На основании анализа продуктов можно допустить, что при облучении водных растворов глюкозы происходят реакции, изображенные на стр. 92.

В приведенной схеме не идентифицированным является диоксиацетон. Хенох [7], анализируя спектры поглощения (максимум 267 и минимум 231 мкм), предположил, что они соответствуют диоксиацетону, легко дающему эндиольную форму.

### Действие ионизирующей радиации на олигосахариды

Работы Хеноха [2, 3] показали, что при облучении водных растворов мальтозы, сахарозы, лактозы и раффинозы прежде всего происходит распад олигосахаридов по кислородному мостику, который ведет к повышению редуцирующей способности растворов и появлению свободных глюкозы и фруктозы, идентифицированных хроматографически [7]. По-видимому, одновременно с распадом по кислородному мостику идет окисление простых сахаров, приводящее к образованию веществ, поглощающих в ультрафиолетовой области с максимумом 264—267 мкм, как это видно из рис. 48.

Образование этих веществ (предположительно диоксиацетона) особенно характерно для сахарозы, так как она содержит фруктозу.

Позднее Уолфром с сотрудниками [4] облучал при 0° концентрированные растворы мальтозы (20 и 50%) большими дозами катодных лучей (50—100 Mr) при мощности облучения 5 Mr/мин и обнаружил линейное

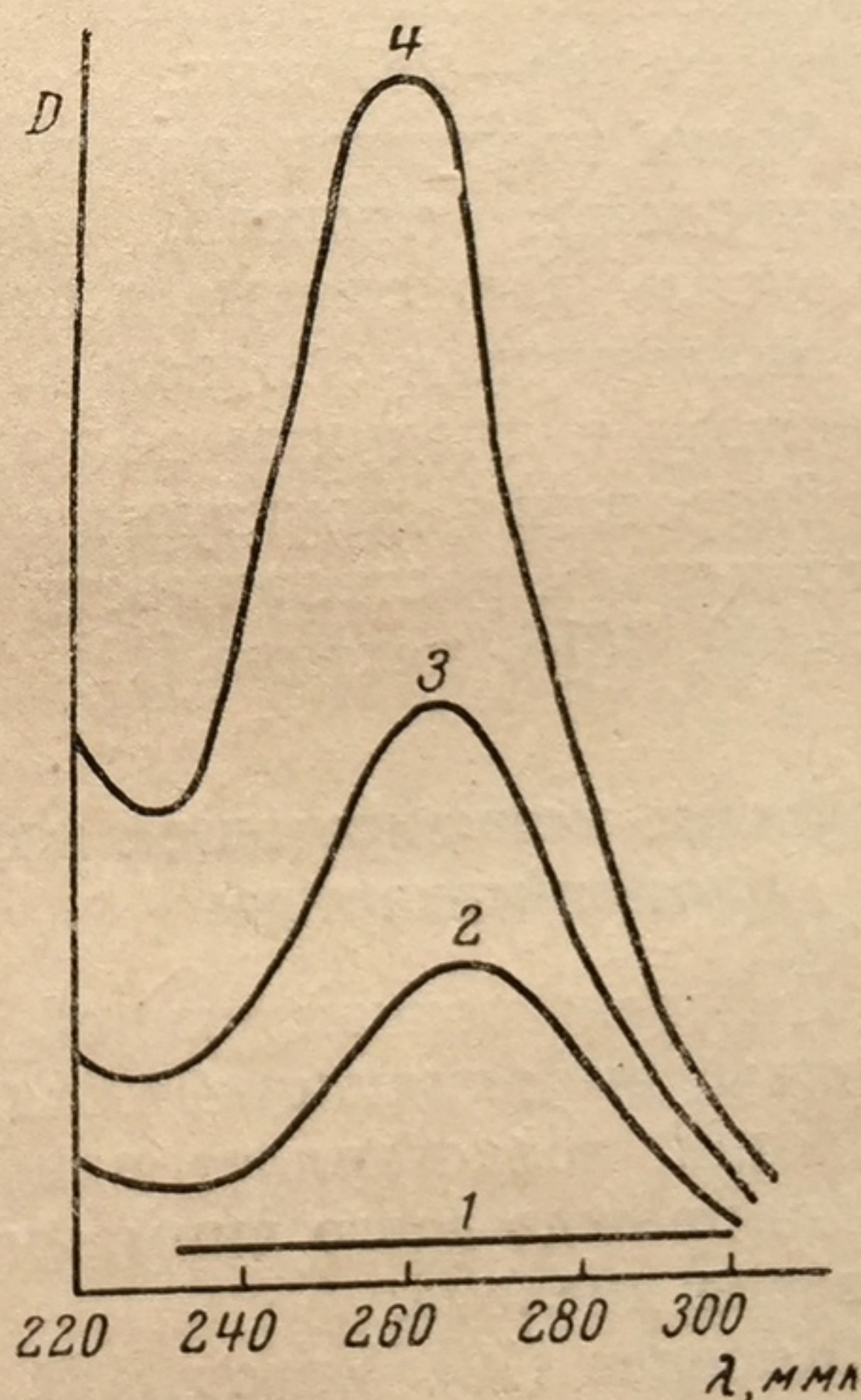


Рис. 48. Кривые поглощения растворов сахарозы после облучения

1 — необлученные; 2 — облученные  $0,42 \cdot 10^{19}$  эв/мл; 3 —  $0,99 \cdot 10^{19}$  эв/мл; 4 —  $1,9 \cdot 10^{19}$  эв/мл



возрастание редуцирующей способности при увеличении дозы и образование свободной глюкозы, идентифицированной хроматографически.

Раффиноза облучалась в 2%-ном растворе  $\gamma$ -лучами  $\text{Co}^{60}$  в дозе от 2,5 до 10 Mr при 24°. В облученном растворе хроматографически обнаружены: раффиноза, мелибиоза, сахароза, галактоза, фруктоза и глюкоза [4]. С повышением дозы пятно на хроматограмме, соответствующее раффинозе, уменьшалось. Эти данные показывают, что распад под влиянием радиации может осуществляться по любому кислородному мостику раффинозы

### **Действие ионизирующей радиации на полисахариды**

Сравнительно хорошо изучено влияние радиации на крахмал и инулин. Еще в ранних работах Хеноха [2] было показано, что при облучении растворов крахмала лучами радиации падает вязкость раствора, растет восстановительная способность, окраска с  $I_2$  переходит от чисто синей через фиолетовую в светло-коричневую, pH смещается в кислую сторону, образуется формальдегид и вещества, поглощающие в ультрафиолетовой области с максимумом 264—267 мкм.

Среди продуктов радиолитического распада крахмала были обнаружены: глюкоза, мальтоза, декстрины, формальдегид, глиоксаль, глюконовые и глюкуроновые кислоты [8].

Аналогичным образом ведут себя растворы инулина, образуя фруктозу и продукты ее радиолитического распада.

Деградация структуры с понижением вязкости растворов и увеличением растворимости наблюдалась при облучении целлюлозы [9, 10] и пектина [11].

### **Действие ионизирующей радиации на мукополисахариды**

Действие ионизирующей радиации на различные мукополисахариды, выполняющие в живом организме специализированные функции, представляет наибольший интерес для радиобиолога. Здесь прежде всего внимание исследователей привлекала гиалуроновая кислота.

Киселев [12], Уптон [13], Проди Мицели [14] при облучении кроликов ионизирующей радиацией (в дозах 100—400 p) обнаружили увеличение проницаемости подкожной соединительной ткани, что говорило о деполимеризации гиалуроновой кислоты в соединительной ткани. Могилевский и Лауфер [15] показали падение вязкости в растворах гиалуроновой кислоты после ее облучения ультрафиолетовыми лучами.

Раган с сотрудниками [16] наблюдали падение вязкости си-

новальной жи  
по-видимому,  
лоты.

О чувствит  
излучениям да  
левского и Ко  
Изучая воз  
вой соли гиа  
канатиков по  
зависимость о  
ции:

Доза (в p) . 33 0  
Снижение  
вязкости (в %) 65

Гиалуронов  
давать соедин  
дуцирующие с  
тельно, шел ли  
луриновой кис

Мы видим,  
вызывают in v

Интересно  
клеиновых ки  
продолжается  
растворов [18].

При больш  
лось при облуч  
рыми электрон  
исходит глубо  
ванием диализ

суриновых кис  
довании спект  
руживается ра  
того, отмечает  
облучении гиа

Другой му  
логичные изм  
4 · 10<sup>6</sup> рад [19].

Разрушени  
диализуемого  
чаемого раств

Содержани  
рина (4 × 10<sup>6</sup>  
Интересно  
дала и его би



новиальной жидкости при ее облучении лучами Рентгена, что, по-видимому, связано с деполимеризацией гиалуроновой кислоты.

О чувствительности гиалуроновой кислоты к ионизирующим излучениям дает представление исследование Киселева, Моги-левского и Когана [17].

Изучая воздействие рентгеновых лучей на растворы калиевой соли гиалуроновой кислоты, изолированной из пупочных канатиков по методу Макклина, авторы установили следующую зависимость относительной вязкости раствора от дозы радиации:

Доза (в <i>p</i> )	33 000	15 000	5 000	2 900	2 1700	2 040	1 800	900	450
Снижение вязкости (в %)	65,6	66,0	23,9	30,9	26,4	29,5	15,8	18,5	16,0

Гиалуроновая кислота после облучения теряла способность давать соединения с белком (реакция Макклина). Так как редуцирующие свойства при облучении не менялись, то, следовательно, шел лишь процесс деполимеризации, а не гидролиза гиалуроновой кислоты.

Мы видим, что даже небольшие дозы радиации (500—1000 *p*) вызывают *in vitro* измеримое изменение вязкости растворов.

Интересно отметить, что так же, как это наблюдалось у нуклеиновых кислот, снижение вязкости гиалуроновой кислоты продолжается в течение нескольких часов после облучения ее растворов [18].

При больших дозах облучения, как это, например, наблюдалось при облучении 0,3% растворов гиалуроновой кислоты быстрыми электронами (2,6 Мэв, ускоритель Ван дер Граафа), происходит глубокая деградация гиалуроновой кислоты с образованием диализуемых соединений, распадом гексозамина и гексуроновых кислот и с полной потерей вязкости [19]. При исследовании спектра поглощения в ультрафиолетовой области обнаруживается размытый максимум при 267 мμ (рис. 49); кроме того, отмечается падение константы седиментации растворов при облучении гиалуроновой кислоты [20].

Другой мукополисахарид — гепарин — также показывал аналогичные изменения при облучении растворов дозами 0,5— $4 \cdot 10^6$  рад [19].

Разрушение молекул гепарина сопровождалось отщеплением диализуемого гексозамина и гексуроновой кислоты; рН облучаемого раствора изменялось от 7,20 до 4,15.

Содержание серы после диализа облученного раствора гепарина ( $4 \times 10^6$  рад) падало до 50% исходного.

Интересно отметить, что параллельно распаду гепарина падала и его биологическая активность как антикоагулянта крови.



Как видно из приведенных данных, облучение различных углеводов приводит к их окислительному распаду, гидролизу и частичной дегградации. При больших дозах облучения происхо-

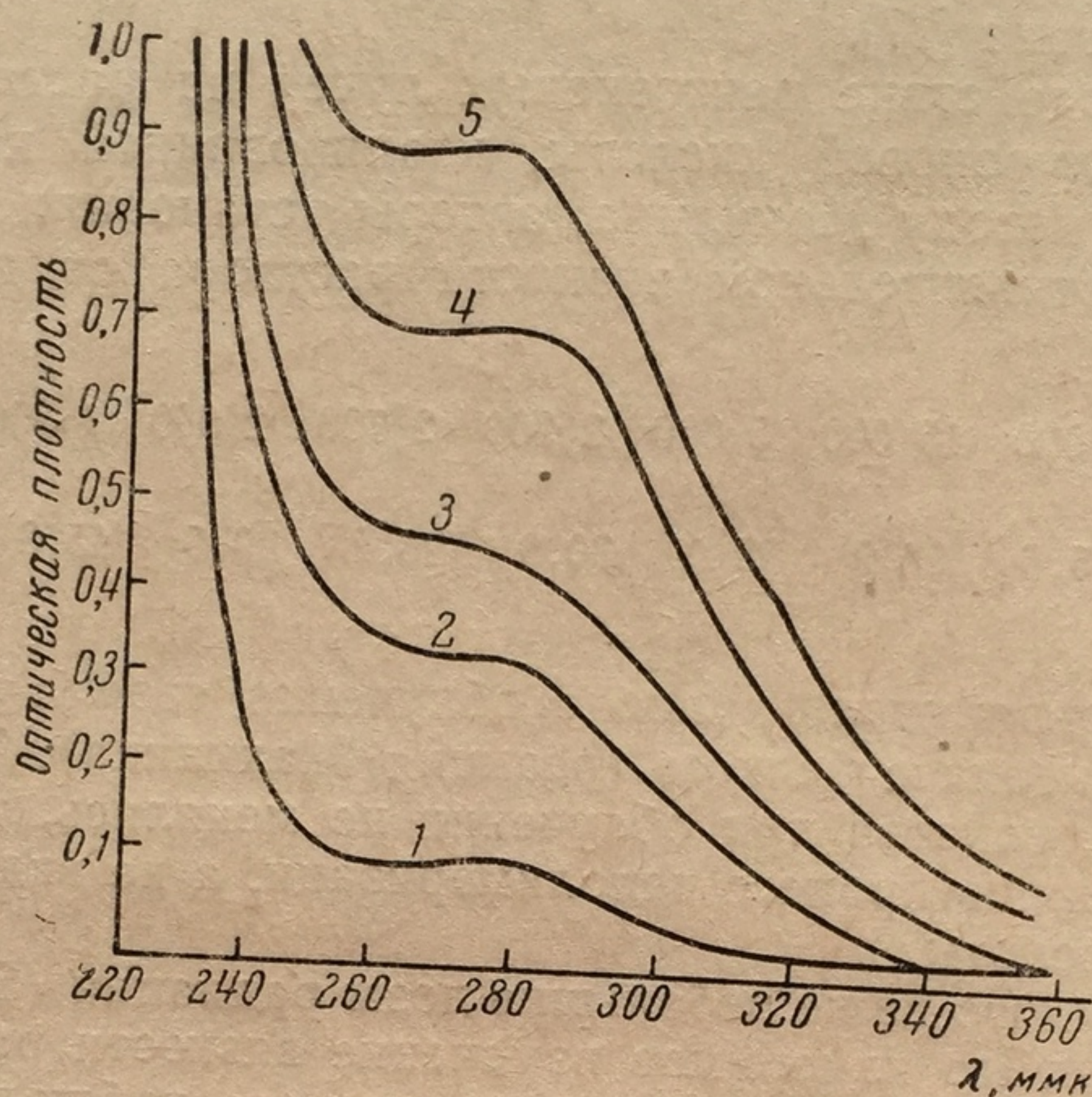


Рис. 49. Кривые адсорбции растворов гиалуроновой кислоты, облученной электронами (2,6 мэв) 5,2 мг гиалуроновой кислоты в 1 мл; pH 7,0  
1 — необлученная; 2 — облучение  $1 \cdot 10^6$  рад; 3 —  $2 \cdot 10^6$  рад; 4 —  $3 \cdot 10^6$  рад; 5 —  $4 \cdot 10^6$  рад

дит потеря их специфических биологических свойств. С другой стороны, появляются такие биологически активные вещества, как формальдегид. Все указанные изменения наступают при дозах порядка нескольких сотен тысяч и миллионов рентген, так что вряд ли могут играть большую роль в радиобиологических процессах, возникающих в животном организме при гораздо меньших дозах.

С этих позиций следует только подчеркнуть деполимеризацию гиалуроновой кислоты, обнаруживаемую в ее растворах уже при дозах порядка нескольких сотен рад.

При применении больших доз ионизирующей радиации для стерилизации и консервирования пищевых продуктов процессы распада углеводов будут иметь место и должны быть приняты во внимание.

- ЛИТЕРАТУРА
1. A. S.
  2. M. A. 1950.
  3. M. A. Sovet
  4. M. J. A. M.
  5. G. O.
  6. G. O.
  7. M. A.
  8. E. J.
  9. J. Ch
  10. R. E.
  11. Z. I. Res.,
  12. П. Н.
  13. A. C.
  14. G. P.
  15. M. M.
  16. C. R. Biol. a
  17. П. Н. прим. б
  18. M. Sc Bioche
  19. E. A. I 11, 149
  20. A. C.
  21. G. O.
  22. C. T. I



## ЛИТЕРАТУРА

1. A. Slosser. C. r. Soc. biol., 89, 96, 812, 1923.
2. М. А. Хенох. Журн. общ. химии, 11, 776, 1941; 17, 1024, 1947; 20, 1560, 1950.
3. М. А. Хенох. Докл. АН СССР, 104, № 5, 746, 1955; Труды 1-го Всесоюз. Совещ. по радиац. химии, 1958, стр. 188.
4. M. L. Wolfson, W. W. Binkley, L. I. McCabe, T. M. Shen-han, A. M. Michelakis. Radiation Res., 10, 37, 1959.
5. G. O. Phillips. Nature, 173, 1044, 1954.
6. G. O. Phillips. J. Chem. Soc., 3522, 1958.
7. М. А. Хенох. Диссертация. Л., 1959, стр. 44.
8. E. J. Bourne, M. Stacey, G. Vaughan. Chem. a. Ind., 573, 1956.
9. J. Charlesby. J. Polymer Sci., 15, 263, 1955.
10. R. E. Glegg, Z. I. Kertesz. J. Polymer Sci., 26, 289, 1957.
11. Z. I. Kertesz, B. H. Morgan, L. W. Tuttle, M. Laviv. Radiation Res., 5, 372, 1956.
12. П. Н. Киселев. Вестник рентгенол. и радиол., 5, 3; 6, 8, 1953.
13. A. C. Upton, W. D. Gude. Arch. Pathol., 58, N 3, 258, 1954.
14. G. Prodi, R. Miceli. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, N 3, 472, 1955.
15. М. Могилевский, А. Л. Лауфер. Докл. АН СССР, 76, 239, 1951.
16. C. Ragan, J. A. Donlan, J. Coss, A. F. Grubin. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 66, 170, 1947.
17. П. Н. Киселев, М. Могилевский, Л. С. Коган. Бюлл. экспе-рим. биол. и мед., 3, 207, 1949.
18. M. Schoenberg, R. Brooks, I. Hall, H. Schneiderman. Arch. Biochem., 30, 2, 333, 1951.
19. E. A. Balazs, T. C. Laurent, A. F. Howe, L. Varga. Radiation Res., 11, 149, 1959.
20. A. Caputo. Nature, 179, 1133, 1957.
21. G. O. Phillips. Internat. J. Appl. Rad. a. Isotopes, 3, 4, 281, 1958.
22. C. T. Bothnerby, E. A. Balazs. Radiation Res., 6, 302, 1957.



## ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ЛИПИДЫ

**Л**ипиды — разнообразные по химическому строению вещества, весьма неравномерно распределенные в организме. Нейтральные жиры присутствуют во всех клетках и тканях в небольших количествах, иногда отлагаются большими массами в так называемых жировых депо, образуя до 80% веса ткани. Содержание жиров в семенах и плодах растений достигает 40—50% их веса.

Значительные концентрации фосфатидов — лецитинов, кефалинов, сфингомиэлинов встречаются в головном и спинном мозгу и мягкотных нервах, где их содержание достигает 9% веса свежей ткани.

Нервная ткань, как известно, богата и другими липидами. Количество цереброзидов в ней может достигать 7% веса сырой ткани, а стерина — 6%.

Большой интерес представляет обширная группа стероидов, которые присутствуют в различных тканях и органах в незначительном количестве, однако выполняют важную роль регуляторов биологических процессов.

Липиды легко образуют соединения с белками — липопротейды. Липопротейды выполняют исключительно важные функции в построении клеточных мембран, поверхностей раздела внутренних структур клетки и образовании субмикроскопических структур клеточных органелл. Повреждения липидов или липопротейдов этих структур ионизирующей радиацией могут иметь существенные последствия для жизни клетки, так как эти структуры, по-видимому, ответственны за упорядоченное действие ферментов и циркуляцию веществ. Липопротейдами в значительной мере определяются полупроницаемые свойства внутренних и наружных мембран клетки и сорбционные свойства клеточных органелл.

Широкая распространенность липидов, их разнообразные функции в клетках и тканях представляют большой интерес для выяснения общих закономерностей действия радиации на эти



соединения. Самостоятельное значение имеет вопрос о применении лучевой стерилизации для пищевой промышленности.

Заметные изменения в нейтральных жирах удавалось обнаружить [1] только путем применения больших доз ионизирующей радиации. Так, при облучении *in vitro* жиров быстрыми электронами от генератора Ван дер Граафа в дозах 500 000—8 000 000 *фэр* наблюдалось образование перекисей. Определение перекисных чисел по окислению двухвалентного железа в трехвалентное и колориметрическое определение последнего показали, что особенно много перекисей удается обнаружить при облучении жира при низкой температуре (табл. 20).

Таблица 20

Образование перекисей под влиянием облучения

Доза, <i>фэр</i>	Перекисные числа в <i>мкМ</i> активного кислорода на 1 г жира			
	37°	20°	5°	—70°
0,5·10 <sup>6</sup>	—	1,4	—	—
2·10 <sup>6</sup>	1,5	2,0	7,7	9,6
8·10 <sup>6</sup>	—	8,0	11,4	15,2

Образование перекисей наблюдалось в равной мере как при облучении природных жиров (например, сливочного масла), так и при облучении чистых препаратов — метилстеарината, метилолеината и метиллинолеата. Аналогично шел процесс и при облучении тристеарината.

Так как появление перекисей отмечалось также и при облучении гексана и циклогексана при 20°, можно предположить, что окисление происходит в углеродной цепи жирных кислот.

Исследование образования перекисей при облучении жирных кислот показало, что при дозах в 2500 *р* лауриновая кислота не образует перекисей, олеиновая дает положительную реакцию, а линолевая еще более отчетливую [2], т. е. образование перекисей идет легче при увеличении числа двойных связей. Количество перекиси возрастает строго пропорционально увеличению дозы в пределах 2—15 тыс. *р*.

Образование перекисей при облучении жиров, жирных кислот и их эфиров зависит от присутствия кислорода. В то время как при облучении свиного, говяжьего, коровьего жиров в атмосфере инертных газов или в вакууме не наблюдалось образования перекисей, в присутствии кислорода при тех же дозах отмечалось интенсивное образование [3, 4]; то же самое наблюдалось и при облучении растительных масел и рыбьего жира [5].

Количественные данные некоторых опытов [6] сведены в табл. 21.



Таблица 21

Зависимость образования перекисей от присутствия кислорода  
(облучение 2 Мэв; ускоритель Ван дер Граафа; доза  $2 \times 10^6$  фэр)

Облучаемый объект	Образование перекисей в мм/кг		
	в присутствии O <sub>2</sub>	в атм. N <sub>2</sub>	в вакууме
Метилловый эфир пальмитиновой кислоты	2,3	1,1	0
Метилловый эфир линолевой кислоты . .	12,8	0,7	—
Лярд . . . . .	10,1	1,7	0,5
Кукурузное масло . . . . .	19,4	1,8	—

Некоторые исследователи отмечали [7, 8] большое сходство реакций при спонтанном автоокислении жиров и при окислении под влиянием ионизирующей радиации. В обоих случаях первичными продуктами реакции являются гидропероксиды. Окислительный распад жиров под влиянием облучения усиливается в присутствии воды.

С заметной скоростью шло окисление линолевой кислоты при облучении ее растворов в боратном буфере при pH=8,5—9,0. При этом было отмечено, что чем меньше дифференциальная доза, тем значительнее эффект облучения. При окислении линолевой кислоты наблюдался эффект последействия, что видно из данных опытов, представленных в табл. 22 [7].

Таблица 22

Эффект последействия при окислении линолевой кислоты

Дифференциальная доза, р/мин	Концентрация продукта реакции после интегральной дозы 1000 р, в молях		
	сразу после облучения	через 1 час	через 2 часа
540	$2,0 \cdot 10^{-5}$	$2,4 \cdot 10^{-5}$	$3,87 \cdot 10^{-5}$
98	$5,0 \cdot 10^{-5}$	$6,2 \cdot 10^{-5}$	$8,4 \cdot 10^{-5}$
33	$11,8 \cdot 10^{-5}$	$15,0 \cdot 10^{-5}$	$18,4 \cdot 10^{-5}$
10	$28,2 \cdot 10^{-5}$	—	—

Облучение растворов молочной кислоты (0,06 М раствор, доза 12 000 р) приводило к частичному окислению молочной кислоты в пировиноградную. Наблюдался также окислительный распад пировиноградной кислоты [9].

При облучении жиров катодными и жесткими рентгеновыми лучами наблюдалось два типа химического последействия:

первый тип — хорошо известная реакция автоокисления;

второй тип — преимущественно проявляется при  $-20^\circ$  и  $-30^\circ$  и обуславливается реакцией между кислородом и образующей-



ся реактивной группой, которая устойчива при этих температурах. При этих условиях [10] образуются перекиси и другие реактивные соединения и увеличивается восприимчивость к аутоокислению. Этот эффект может наступать и при температуре тела в твердых жирах.

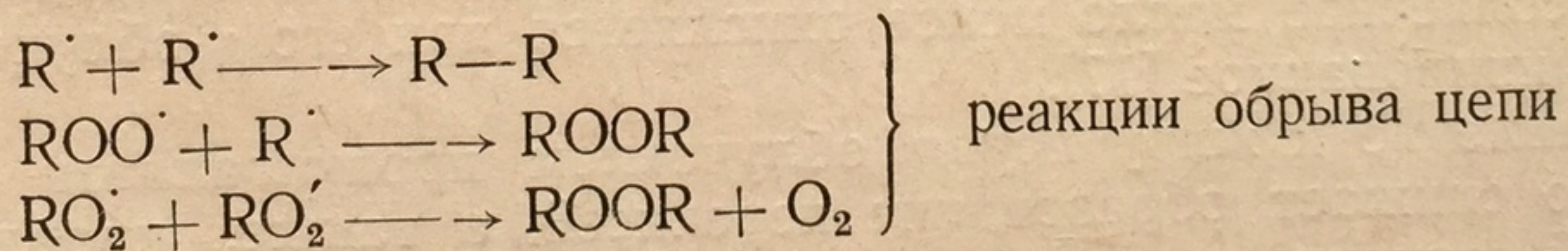
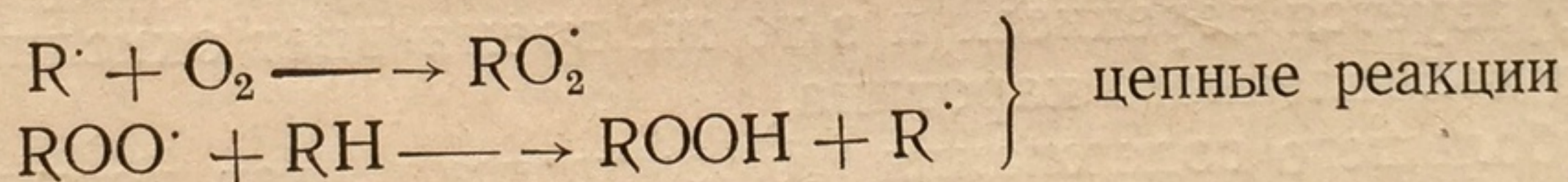
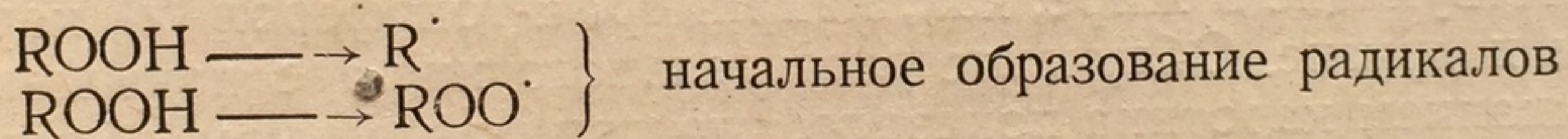
Облучение жиров, уже содержащих перекиси даже в значительных дозах, не ведет сразу к их резкому увеличению, однако при дальнейшем хранении образование перекисей идет несколько интенсивнее, чем в необлученных образцах, что хорошо иллюстрируется опытами Журавлева [11], представленными в табл. 23.

Таблица 23

Влияние облучения подсолнечного масла дозой  $10^6$   $\gamma$ -лучей  $\text{Co}^{60}$  на интенсивность накопления перекисей

Образцы	Перекисные числа, <i>мк-экв/г</i>				
	время после облучения (в сутках)				
	сразу после облучения	на 5-е	на 10-е	на 15-е	на 20-е
Облученные . .	$14,2 \pm 0,89$	$25,1 \pm 0,99$	$48,2 \pm 1,39$	$58,3 \pm 1,54$	$73,5 \pm 1,02$
Необлученные .	$14,1 \pm 0,65$	$22,4 \pm 0,84$	$42,4 \pm 1,39$	$51,8 \pm 2,02$	$68,7 \pm 2,03$

Образовавшиеся перекиси могут давать, согласно Болл и Тен-Хавену [12], следующие реакции:



По мнению Шевалье и Бюрг [13], эти вторичные реакции играют важную роль при лучевой стерилизации жира и быть может при облучении организма.

При больших дозах облучения начинают накапливаться дальнейшие продукты окислительного распада перекисей — насыщенные и ненасыщенные карбонильные соединения [14]. В табл. 24 приведены данные, показывающие закономерности их образования [6].



Таблица 24

Образование карбонильных соединений при облучении липидов ( $2 \times 10^6$  фэр)

Облучаемое вещество	Условия облучения	Образование карбонильных соединений (в мкМ/кг)	
		ненасыщенных	насыщенных
Метилловый эфир пальмитиновой кислоты	В атм. O <sub>2</sub>	0,6	4,3
	В атм. N <sub>2</sub>	0,2	2,1
	В вакууме	0,2	2,0
Метилловый эфир линолевой кислоты	В атм. O <sub>2</sub>	3,1	5,1
	В атм. N <sub>2</sub>	1,5	2,1
	В вакууме	1,2	2,3
Лярд	В атм. O <sub>2</sub>	3,0	10,1
	В атм. N <sub>2</sub>	1,6	6,8
	В вакууме	1,4	6,1

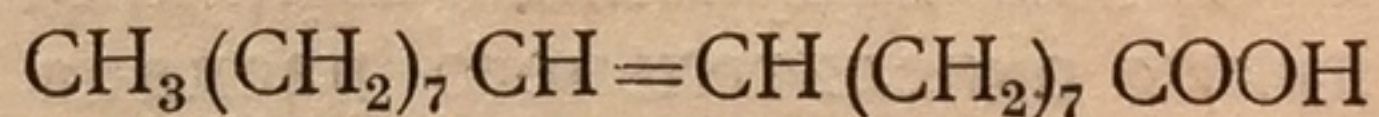
При действии ионизирующей радиации на полиэтиленовые кислоты происходит изомеризация двойных связей с появлением интенсивных полос поглощения при 234 мк, соответствующих конъюгированным диэнам, что было показано на эфирах стеариновой, олеиновой и линоленовой кислот [2, 7, 15].

Обрыву цепей и подавлению образования перекисей и карбонильных соединений способствуют антиокислители, обычно присутствующие в жире, как, например,  $\alpha$ -токоферол [2], каротиноиды и другие. Облучение растительного жира с повышенным содержанием каротина показало, что при длительном облучении в нем не образуется перекисей и в то же время идет окислительный распад добавленного каротина.

В силу большего содержания [16] антиоксидантов неочищенное подсолнечное масло менее окисляется при его  $\gamma$ -облучении, чем рафинированное [17].

Добавление к жиру перед облучением пропилгаллата значительно снижает образование перекисей, а также, правда в меньшей степени, и появление карбонильных соединений [16].

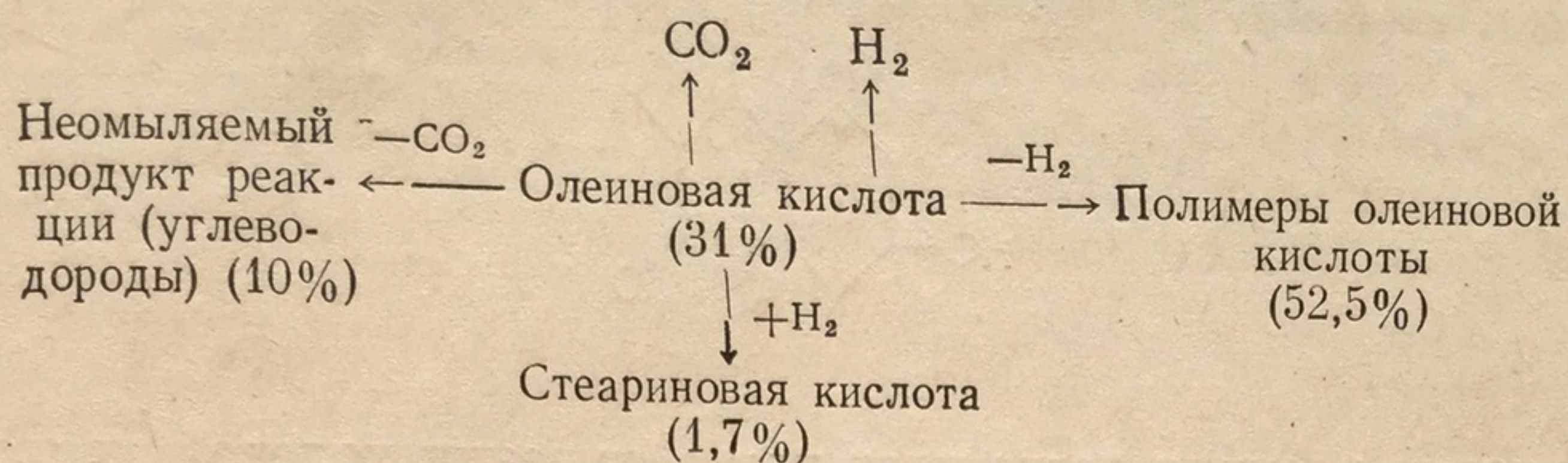
Наряду с окислительными процессами Буртон [18] наблюдал и более глубокую деструкцию молекул жирных кислот, а также и их гидрогенизацию по месту двойных связей. При двухчасовом облучении химически чистой олеиновой кислоты



потоком дейтронов, полученных на циклотроне, происходило образование ряда веществ, указывающих на сложные процессы

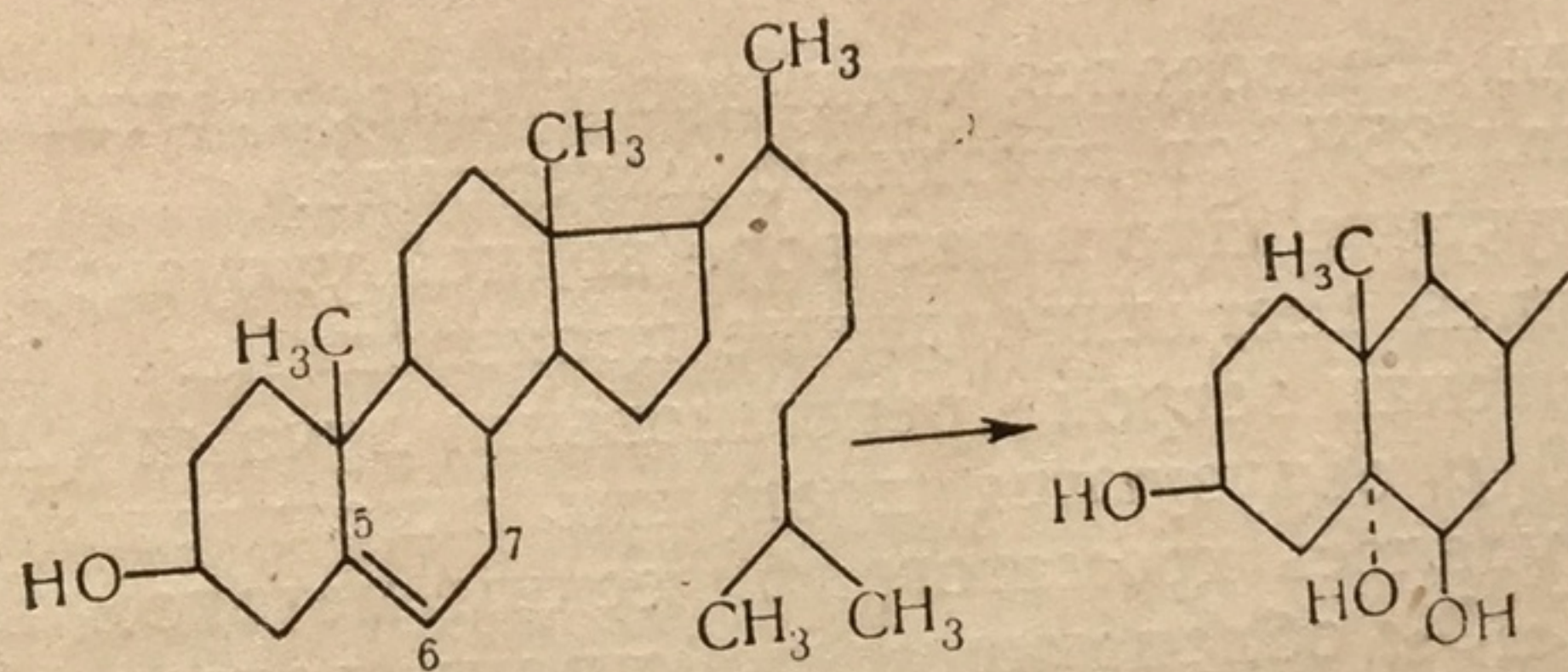


распада, гидрогенизации и полимеризации, идущие с ненасыщенными жирными кислотами при облучении:



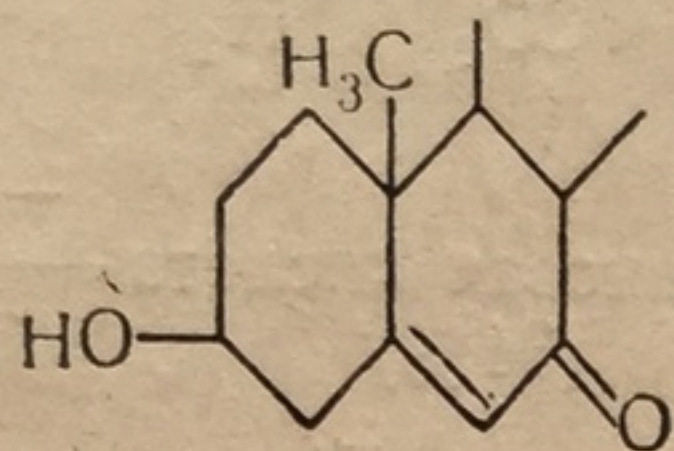
Процессы декарбоксилирования жирных кислот, идущие с образованием углеводородов, были обнаружены также при действии  $\alpha$ -частиц на каприловую, лауриновую и пальмитиновую кислоты [19]. Многочисленные исследования причин возникновения неприятного запаха, появляющегося при облучении жиров в дозах 1—5 млн. *p*, показали только частичную зависимость появляющегося запаха от количества образующихся перекисей и карбонильных соединений [6]. По-видимому, существенная роль здесь принадлежит летучим карбонильным соединениям, составляющим только часть всех карбонильных веществ, образующихся после облучения. Антиоксиданты почти не оказывают влияния на образование пахучих веществ [6].

Эшуел и Хикмен [20] показали, что при действии ионизирующих излучений на стеролы происходят окислительные процессы, идущие, в первую очередь, по месту двойных, ненасыщенных связей. Для того чтобы процесс прошел глубоко и продукты реакции образовались в количестве, достаточном для их идентификации, требовалось применять большие дозы. Так, например, при облучении водного раствора натриевой соли янтарнокислого холестерина (0,25%-ный раствор) рентгеновыми лучами для выделения и идентификации продуктов реакции потребовались дозы  $3 \cdot 10^6$  *p*. При этом около 50% взятого стерола оставалось неизменным, 15% изолировалось в виде не идентифицированного масла, а 19% исходного количества было выделено и идентифицировано как холестеран —  $3\beta:5\alpha:6\beta$  — триол. Следовательно, при облучении шла реакция окисления по двойной связи 5—6 с образованием транстриолов:

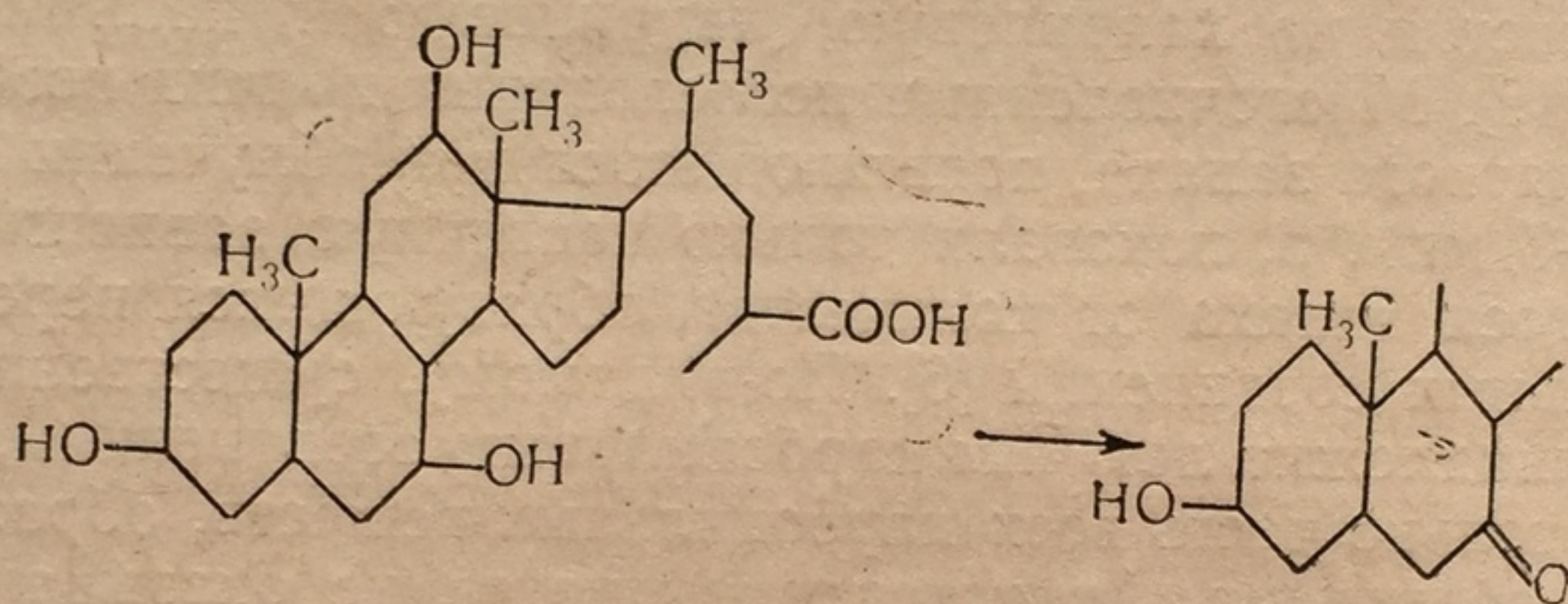




Менее интенсивно идет гидроксилирование в положение 7 с образованием кетогруппы:

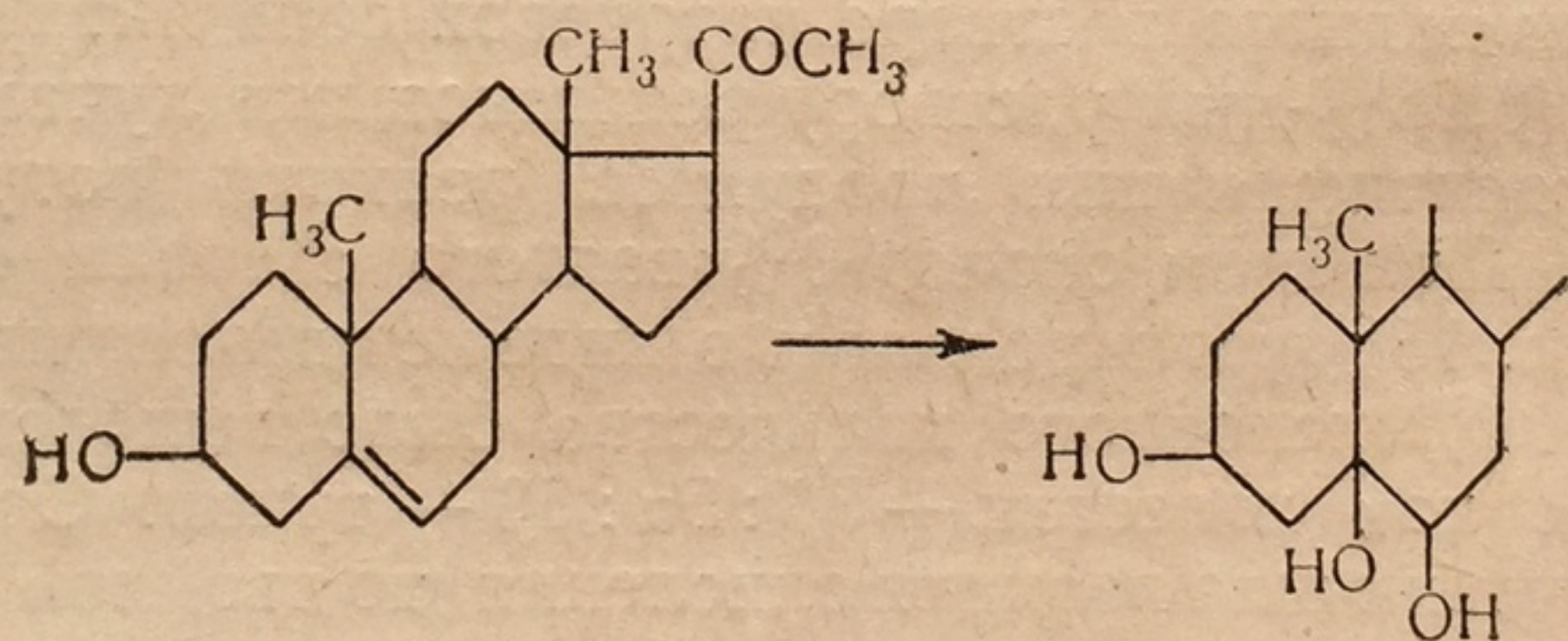


Эта вторая реакция легче идет при облучении хлорной кислоты, где в положении 7 есть подвижный гидроксил, что ведет к образованию 7-кетохлорановой кислоты:



Такой путь окисления встречается и в нормальных биологических условиях.

Аналогичное окисление наблюдалось и при облучении растворов 3-β-гидроксиандростан-5-ен-20-он:



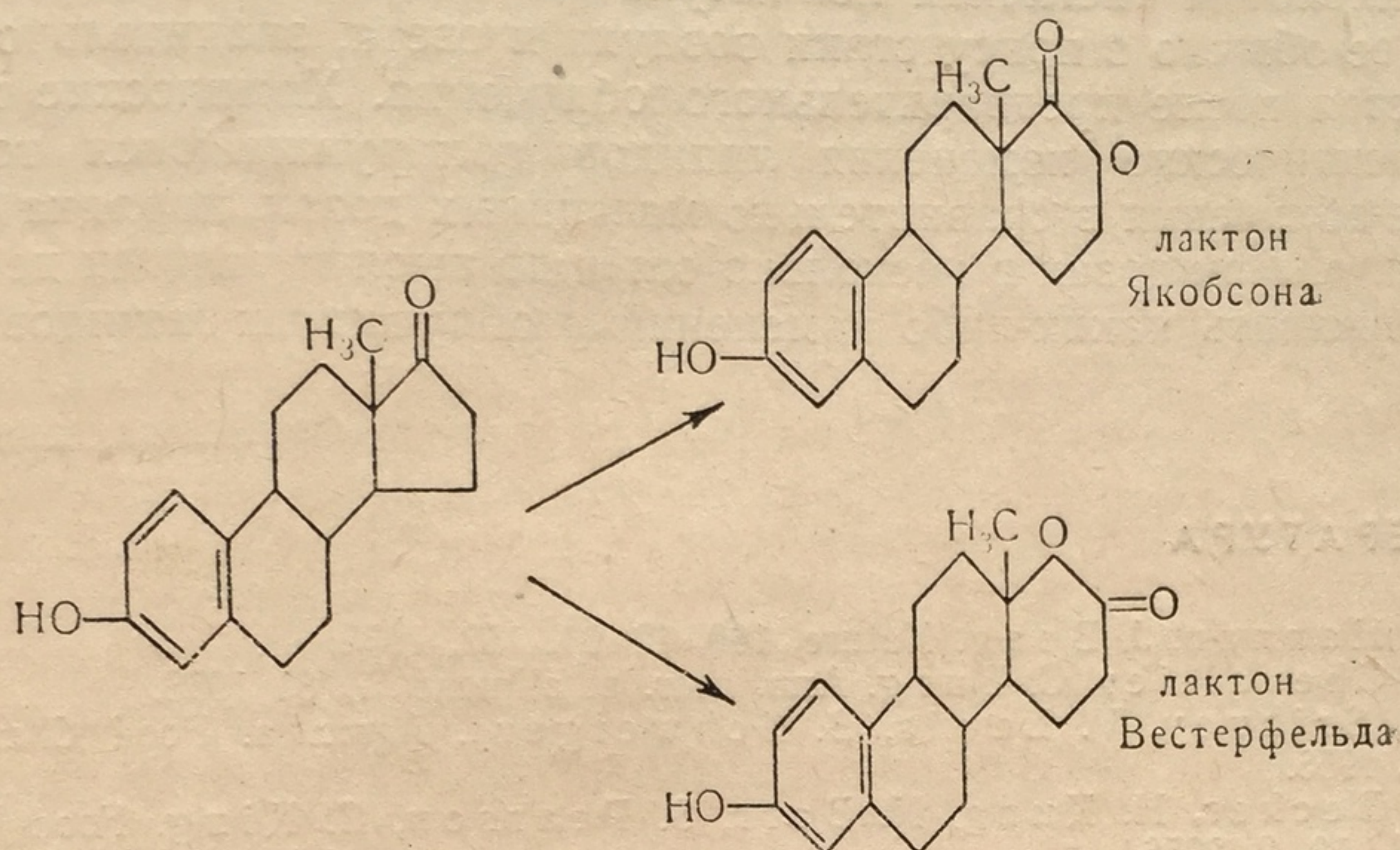
В реакции образовался тригидроксиандростан-20-он, который составлял 25% от исходного материала.

Если облучение шло в растворе водной уксусной кислоты, то образовывались ацетилированные производные.

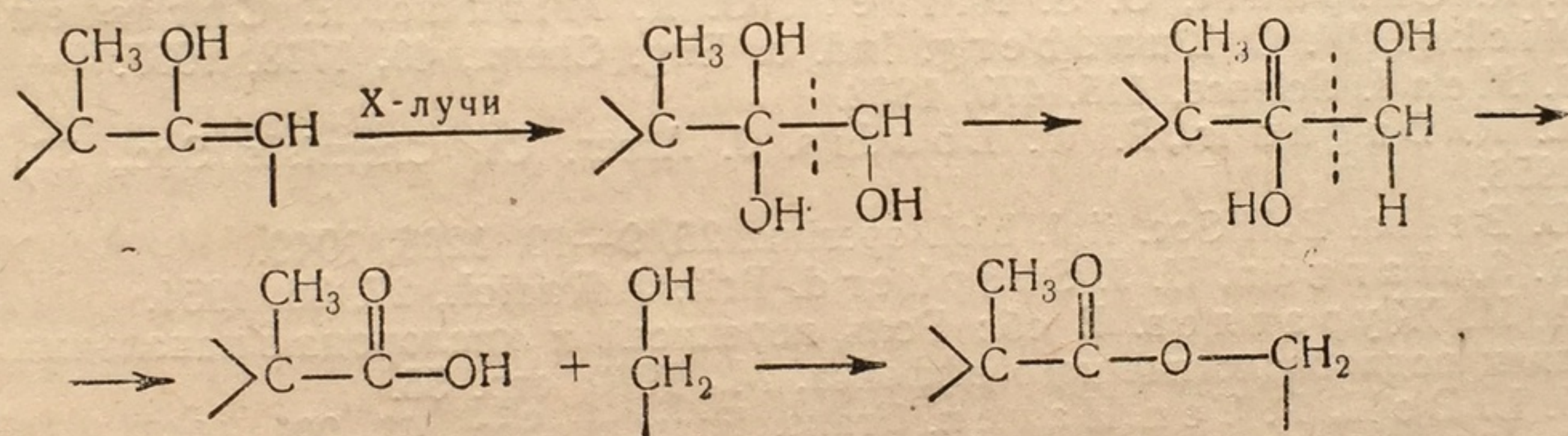
При облучении эстрона рентгеновыми лучами (200 кВ) в дозах 3 000 000 p образуются продукты окислительного распада, из которых удалось хроматографическим методом выделить вещество  $C_{10}H_{22}O_3$ , обладающее свойствами лактона [21].



По-видимому, здесь происходит реакция, описанная ранее при окисления эстрона перекисью водорода, а именно:



Эта реакция может идти следующим образом:



При дозе 3 000 000 *p* оказываются окисленными значительные количества вещества, при меньших дозах эти же реакции будут протекать с меньшими выходами.

При облучении стероидов в вакууме образуются свободные радикалы, легко обнаруживаемые методом электронного парамагнитного резонанса [22]. При облучении в присутствии кислорода идет образование гидроперекисей. При облучении водных растворов различных стероидных гормонов ( $10^{-4}$  М) рентгеновыми лучами (200 кВ;  $5,7 \times 10^3$  *p/мин*) в присутствии кислорода (1 атм.) и pH  $\sim 5,5$  были получены [23] количественные выходы органических перекисей.

Суммируя имеющиеся данные по действию ионизирующей радиации на липиды, следует отметить, что при облучении этих веществ первоначально возникающие радикалы легко, в присутствии кислорода воздуха, инициируют возникновение цепных реакций окисления, ведущих через образование перекисей к появлению ряда продуктов окисления. При облучении идет обра-



зование различных карбонильных соединений, возникновение конъюгированных двойных связей, декарбоксилирование жирных кислот и частичная полимеризация. Автоокисление жиров, идущее обычно в присутствии воздуха и света, значительно усиливается после предварительного облучения. Химические и органолептические изменения липидов обнаруживаются только после облучения в сравнительно массивных дозах, порядка 0,4—3 млн. р. При дозах в несколько сот и до тысячи рентген не удается выявить каких-либо изменений у облученных липидов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. R. Hannan, J. Boag. *Nature*, **169**, 42, 91, 152, 1952.
2. A. Chevallier, C. Burg. *Ann. nutr. et aliment.*, **7**, 81 1953.
3. M. Sribney, V. Lewis, B. Schweigert. *Agric. a. Food Chem.*, **3**, 11, 1955.
4. R. Becker, H. Kung, N. Barr, S. Pearson, C. King. *Food Technol.*, **10**, 2, 2956.
5. A. Astrack, O. Sorbey, A. Brasch, W. Huber. *Food Res.*, **17**, 571, 1952.
6. J. R. Chipault, O. S. Privett, G. R. Miruno, E. Christensen Nickel, W. O. Lundberg. *Ind. a. Eng. Chem.*, **49**, 1713, 1957.
7. J. Mead. *Science*, **115**, 470, 1952.
8. L. R. Dugan Jr., P. W. Londis. *J. Amer. Oil Chemists Soc.*, **33**, 152, 1956.
9. D. Bella. *Boll Soc. ital. biol. sperim.*, **25**, 9—10, 1268, 1949.
10. R. S. Hannan, H. J. Shepherd. *Brit. J. Radiol.*, **27**, 36, 1954.
11. А. И. Журавлев. В сб.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиологического эффекта. М., 1960, стр. 55.
12. J. L. Boll, P. Ten Haven. *Trans. Faraday Soc.*, **43**, 201, 1947.
13. A. Chevallier, C. Burg. *Radiobiology Sympos.*, ed. by Bacq a. Alexander. London, 1954, p. 1—25.
14. D. A. Long, B. E. Proctor. *J. Amer. Oil Chemists Soc.*, **33**, 237, 1956.
15. B. H. Polister, J. F. Mead. *Agric. a Food Chem.*, **2**, 199, 1954.
16. Г. М. Егизаров. Вопросы питания, **5**, 9, 1958.
17. Г. М. Егизаров. Маслобойно-жировая промышленность, **24**, № 2, 18. 1958.
18. V. Burton. *J. Amer. Chem. Soc.*, **71**, 4117, 1949.
19. C. W. Sheppard, V. C. Burton. *J. Amer. Chem. Soc.*, **68**, 1636, 1946.
20. G. Ashwell, G. J. Hickmann. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **80**, 3, 407, 1952.
21. M. Keller, J. Weiss. *J. Chem. Soc.*, 1247, 1951.
22. W. Gordy. *Radiation Res.*, Suppl. 1, 491, 1959.
23. G. Scholes, J. Weiss. *Radiation Res.*, Suppl. 1, 177, 1959.

ДЕЙСТВИЕ ИО  
НА ФЕРМЕНТ

В процессах  
место. Это  
воздействи  
Естественно. В  
гуляторов обм  
ткани и органи  
ций, деструкци  
ществ. Ведь да  
либо фермента  
ординированно  
ствляются в ж  
сованности дей  
привести к рас  
что, в свою оч  
пряженных с  
ментов?

В настоящее  
териалом по д  
ные растворы  
ферменты ока  
вации нужно  
радиации.

Еще в 1934  
дия на криста  
сина идет пар  
бует весьма д  
В опытах  
ческого трипс  
(капацитрон  
сина осущест  
мыми сотням  
от свойств о



## ДЕЙСТВИЕ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ НА ФЕРМЕНТЫ И ВИТАМИНЫ

**В** процессах обмена веществ ферменты занимают центральное место. Это заставляет особенно внимательно отнестись к воздействию ионизирующих излучений на их активность. Естественно возникает вопрос, не разрушением ли этих регуляторов обмена определяется лучевое поражение клетки, ткани и организма, которое сопровождается нарушением функций, деструкцией и распадом многих биологически важных веществ. Ведь даже незначительное снижение активности какого-либо фермента может привести к нарушению слаженности, координированности тех биохимических процессов, которые осуществляются в живом организме, благодаря весьма точной согласованности действия ферментов. Выпадение одного звена может привести к распаду всей цепи связанных во времени реакций, что, в свою очередь, вызовет нарушение других процессов, сопряженных с первыми. Какова же радиочувствительность ферментов?

В настоящее время мы располагаем довольно обширным материалом по действию ионизирующей радиации на разбавленные растворы чистых кристаллических ферментов. Многие ферменты оказались очень устойчивыми, и для их инактивации нужно было прибегать к весьма значительным дозам радиации.

Еще в 1934 г. Нортроп [1], изучая действие  $\beta$ - и  $\gamma$ -лучей радиации на кристаллический пепсин, отметил, что инактивация пепсина идет параллельно с процессом денатурации белка и требует весьма длительного облучения.

В опытах Бира и Норда [2] с облучением чистого кристаллического трипсина потоком электронов высокой интенсивности (капацитрон на 3 млн. эв) было показано, что инактивация трипсина осуществляется только при облучении дозами, измеряемыми сотнями тысяч рентген, и в значительной мере зависит от свойств окружающей среды. Так, для полной инактивации



трипсина в кислой среде требовалась доза 400 000 р. Для достижения того же эффекта при рН 8 надо было применять в четыре раза бóльшую дозу, т. е. 1 600 000 р. Устойчивость кристаллического трипсина еще более повышалась при облучении замороженных растворов ( $-70^{\circ}$ ). В этих условиях даже доза 1 600 000 р приводила только к потере 50% активности. Наконец, сравнение данных, получаемых при облучении кристаллического трипсина

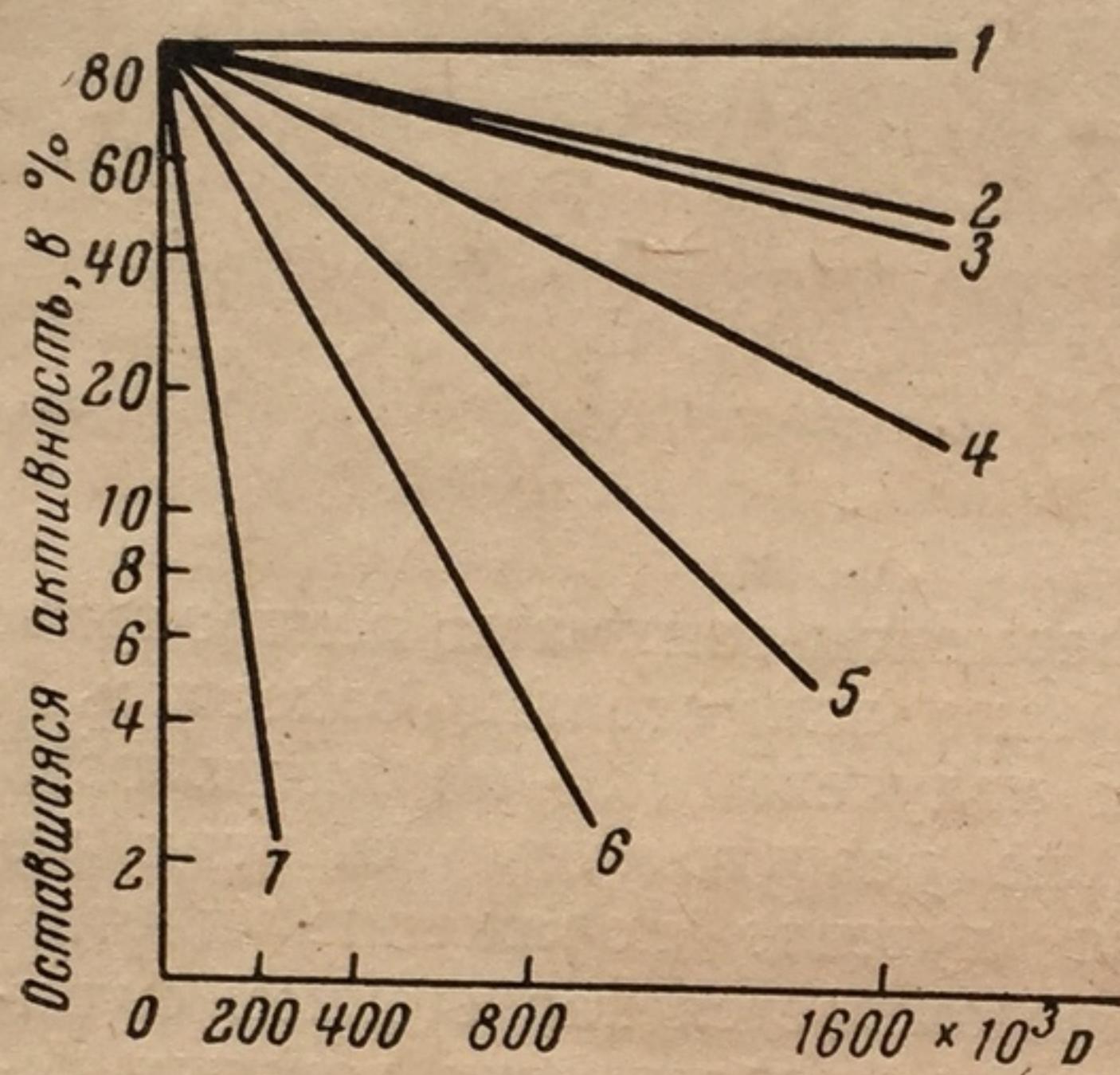


Рис. 50. Инактивация трипсина при облучении в различных условиях

1 — облучение высушенного трипсина; 2 — рН 8, при температуре сухого льда, 10 мг/мл; 3 — рН 8, при комнатной температуре, 80 мг/мл; 4 — рН 2,6, при температуре сухого льда, 10 мг/мл; 5 — рН 2,6, при комнатной температуре, 80 мг/мл; 6 — рН 2,6, при комнатной температуре, 10 мг/мл; 7 — рН 2,6, при комнатной температуре, 1 мг/мл

даже в наиболее неблагоприятных условиях требуются дозы, в сто раз и более превосходящие те, которые оказываются губительными для высокоорганизованных животных.

Эффект последствия, отмеченный выше для растворов нуклеиновых кислот, наблюдается и у различных ферментов.

Он был описан для пепсина Андерсоном [3] и для растворов кристаллического трипсина — Мак Дональдом [4].

Инактивация трипсина после облучения при пониженной температуре ( $2^{\circ}$ ) отсутствовала, а при  $25-37^{\circ}$  была значительной. Измерение кинетики процесса свидетельствует о наличии реакции первого порядка. Это дает основание считать, что во время облучения молекулы трипсина повреждаются и делаются более чувствительными к тепловой инактивации. В пользу этого пред-

в сухом состоянии и в растворенном виде, показало, что для достижения одинакового результата в случае сухого энзима следовало брать дозы, в 170 раз бóльшие.

Зависимость эффекта облучения от свойств окружающей среды наглядно показана на рис. 50.

Из приведенных данных видно, как зависит устойчивость фермента от рН, температуры среды и концентрации фермента. Интересно, что хотя рН 2,6 является оптимальной для сохранения фермента при обычных условиях, именно в этом случае идет наибольшее разрушение фермента при облучении. Присутствие ионов кальция, стабилизирующих фермент при хранении его растворов, также не оказывает никакого положительного действия при облучении. Однако



положения свидетельствует и тот факт, что и необлученный трипсин при 25—37° медленно инактивировался. Дальнейшее изучение этой реакции последствия [5, 6] показало, что скорость инактивации трипсина является функцией дозы облучения и концентрации трипсина. Медленно идущая, последующая инаktivация трипсина — функция начальной инаktivации. Разбавление раствора трипсина после облучения не изменяет скорости вторичной инаktivации. Исследуя роль перекиси водорода и радикалов гидроксила в инаktivации трипсина, авторы показали, что активность разбавленных растворов кристаллического трипсина подавляется  $H_2O_2$  и ОН-радикалами. В первом случае подавление не зависит от времени инкубации фермента с  $H_2O_2$  и активность восстанавливается при разбавлении, уменьшении концентрации  $H_2O_2$ . Во втором случае угнетение зависит от времени экспозиции фермента с радикалами ОН и не снимается при уменьшении концентрации ОН-радикалов. Инаktivация растворов трипсина рентгеновыми лучами была необратима, что приводит авторов к выводу о важной роли радикалов ОН в этом процессе.

Реакция последствия исследовалась и на растворах пепсина. Так, Андерсон [7] установил, что инаktivация пепсина рентгеновыми лучами протекает в две стадии: инаktivация во время облучения и медленно развивающаяся инаktivация после облучения с высоким температурным коэффициентом. Во второй реакции инаktivация происходит в гораздо большей степени, чем во время первой и, по-видимому, зависит от некоторого видоизменения белка в момент облучения.

Повышая концентрацию облучаемого пепсина, можно наблюдать отчетливый эффект самозащиты. Инаktivация пепсина облучением может быть предотвращена добавлением альбумина, гематопорфирина, глюкозы, цистеина и цистаминна [8].

Явление радиационного последствия было подробно изучено Эйдузом с сотрудниками на растворах миозина по его адезинтрифосфатазной активности. Было найдено, что при облучении растворов миозина в отсутствие кислорода (25 000—50 000 p) его ферментативная активность, определенная в тех же условиях опыта, почти не менялась [9] в течение нескольких часов после облучения. Если же после облучения дать кислород, то происходило быстрое падение активности фермента, пропорциональное дозе облучения. Кроме того, облученный фермент оказывался гораздо более термолабильным, чем необлученный. Энергия активации пострадиационной термоинаktivации была значительно меньше (13 ккал/моль), чем энергия термоинаktivации необлученного фермента (77 ккал/моль) [10]. Авторы, сопоставляя пострадиационное воздействие тепла и кислорода, приходят к выводу, что под влиянием облучения белка-фермента

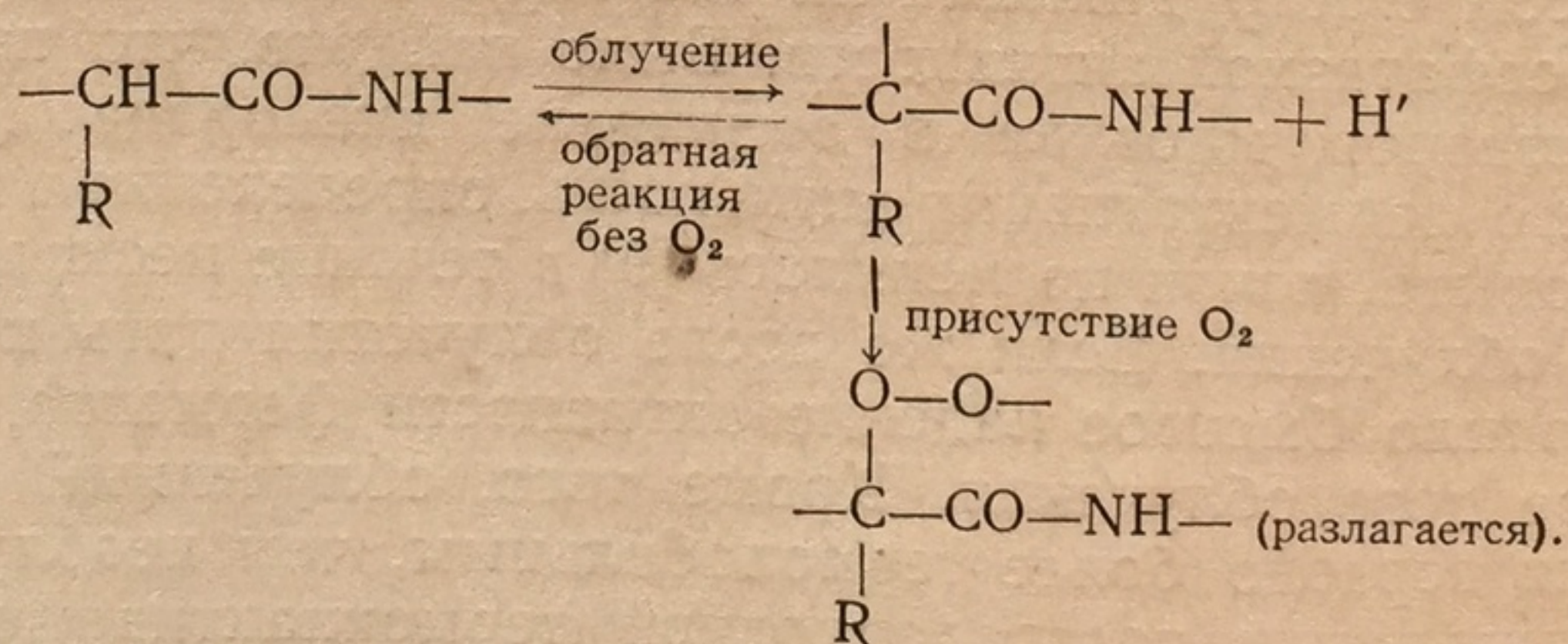


та в его молекуле образуется несколько центров скрытого повреждения, которые проявляются в последующей потере ферментативной активности под влиянием кислорода или тепла [11] обязательно в присутствии воды [12]. Физическая природа скрытых повреждений, образующихся при облучении белка-фермента, далеко еще не ясна. Эйдусом было высказано предположение, что при облучении растворов белков возможна длительная консервация энергии, связанная с нарушением структуры объекта [13]. На сухих препаратах белка методом электронного парамагнитного резонанса была показана возможность такой консервации в связи с захватом и длительным удержанием электронов в энергетических «ловушках» [14, 15]. Позднее Эйдус и Каюшин [16] обнаружили синглетные сигналы в лиофильно высушенных препаратах миозина и пепсина, водные растворы которых были предварительно облучены дозами 500 000 и 3 000 000 p.

Сигналы не обнаруживались в том случае, если облученные растворы ферментов подвергались сначала тепловому воздействию и только затем высушиванию. Это говорит о том, что обнаруживаемые неспаренные электроны действительно связаны с явлениями последействия [16]. Приведенные факты, по-видимому, имеют общее значение, так как наблюдались у таких различных белков-ферментов, как миозин и пепсин.

Александр [17] исследовал инактивацию трипсина при его облучении в сухом состоянии электронами 2 Мэв и  $\gamma$ -лучами  $\text{Co}^{60}$  в присутствии и в отсутствие кислорода. Как видно из графика, представленного на рис. 51, и в сухом состоянии выявляется отчетливый кислородный эффект. При облучении  $\alpha$ -частицами полония результаты опытов, проведенных в вакууме и в присутствии кислорода, полностью совпали.

Наличие кислородного эффекта автор объясняет промежуточным образованием радикала, который в отсутствие  $\text{O}_2$  может вернуться в первоначальное состояние, а в присутствии  $\text{O}_2$  дает перекись:



Образование пероксидных свободных радикалов при облучении сухого сывороточного альбумина [18] подкрепляет эти представления.



Предполагалось также, что инактивация фермента, находящегося в мономолекулярном слое на поверхности клеточных структур, будет идти более энергично, чем при тех же концентрациях в растворе. В 1950 г. были опубликованы опыты Мациа и Блюментала [19], в которых облучение смеси пепсина с альбумином производили в мономолекулярных слоях, образуемых на водной поверхности. Авторам удавалось получать значительное подавление активности фермента уже при дозах 100—150 р.

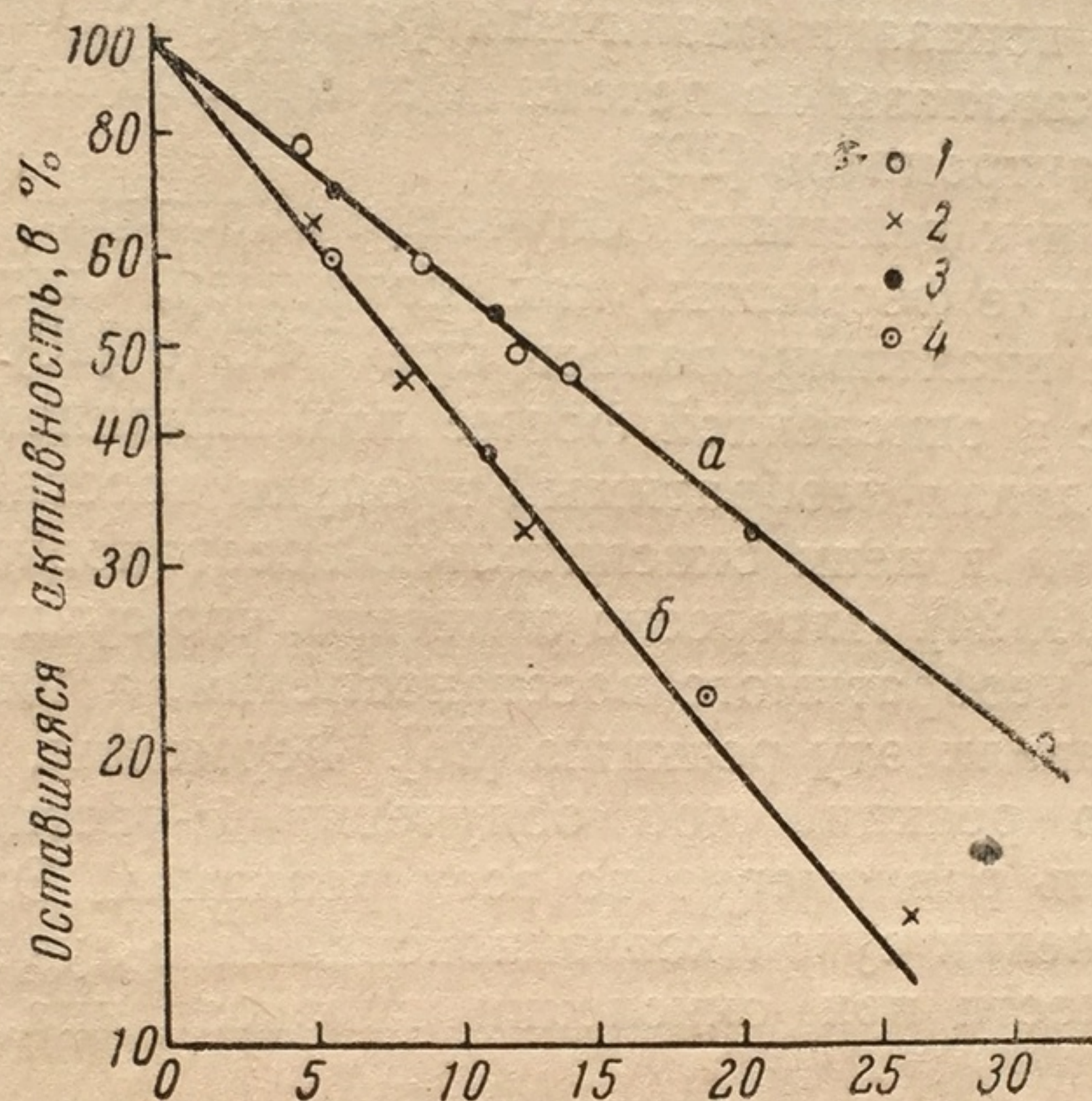


Рис. 51. Кислородный эффект при облучении сухого трипсина в вакууме (а), на воздухе (б)

1 — 2 Мэв электроны в вакууме; 2 — 2 Мэв электроны на воздухе; 3 — γ-лучи  $\text{Co}^{60}$  в вакууме; 4 — γ-лучи  $\text{Co}^{60}$  на воздухе

Нами совместно с Г. Н. Саенко была изучена инактивация пероксидазы в мономолекулярном слое. Сильно разбавленные очищенные растворы пероксидазы хрена в количестве 0,01 мл наносились на поверхность  $150 \text{ см}^2$ , очищенной от поверхностно-активных примесей воды в парафиновой кювете, где пероксидаза образовывала прочный мономолекулярный слой. Активность фермента в поверхностном слое проверялась следующим образом. Слой сжимался парафиновыми рейками до  $10 \text{ см}^2$  и переносился на бумагу той же площади. Активность фермента на бумаге обнаруживалась по скорости стандартного побурения при нанесении на полоску бумаги 2%-ного раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$  и 2%-ного раствора пирогаллола. При облучении пероксидазы в мономолекулярном слое рентгеновыми лучами дозами до 2100 р нам не удалось обнаружить ее распада, т. е. той большой чувствительности к облучениям, о которой сообщалось в литературе.

Для частичной инактивации чистой кристаллической каталазы, взятой в концентрациях  $3,7 \cdot 10^{-6} \text{ г/мл}$ , требовалась доза в



12 400 *p* [20]; при 5000 *p* не удавалось обнаружить сколько-нибудь заметной инактивации фермента.

Исследования с кристаллической каталазой [21], изолированной из печени быка, показали, что ее инаktivация в разбавленных растворах под влиянием  $\gamma$ -лучей  $\text{Co}^{60}$  и быстрых электронов может быть предотвращена добавлением цистеина, цистина или глутатиона. При инаktivации каталазы изменялись ее хроматографическое поведение и спектр поглощения в ультрафиолетовой области. Была показана различная радиочувствительность кристаллической каталазы из печени и аморфной каталазы, изолированной из эритроцитов [22].

Устойчивыми к действию облучения оказались и другие порфиринсодержащие ферменты, как, например, цитохромоксидаза, которая не инаktivировалась при 5000 *p* [20].

Цитохром с в окисленной форме под влиянием облучения в отсутствие  $\text{O}_2$  давал необратимый продукт восстановления, уже не реагирующий в цепи окислительно-восстановительных реакций дыхания [23, 24]. Интересно отметить, что сукцинат защищал цитохром с от необратимого восстановления, а пируват, лактат и малат усиливали эту реакцию [25]. Ферменты, катализирующие несколько реакций при облучении  $\alpha$ -частицами, теряют свою активность равномерно во всех реакциях. Это было показано при облучении сухой ксантиноксидазы  $\alpha$ -лучами и испытании ее активности при окислении гипоксантина, альдегида и DPNH [26].

Из работы Дейла [27] видно, что оксидаза *d*-аминокислот сравнительно чувствительна к действию ионизирующей радиации.

Как видно из рис. 52, дозы в 2000—4000 *p* вызывают заметное снижение активности, а дозы около 10 000 *p* приводят к полной инаktivации фермента.

Чувствительными к действию ионизирующей радиации оказались нуклеазы. Манойлов и Семенов [28] исследовали инаktivацию деполимеразы ДНК, полученной по способу Маккарти в растворах, содержащих 0,5 мг фермента в 100 мл при облучении рентгеновыми лучами (при 0°).

Полученные ими результаты представлены в табл. 25.

Таблица 25

Инаktivация деполимеразы ДНК при облучении

Доза облучения, <i>p</i>	Снижение активности, %	Доза облучения, <i>p</i>	Снижение активности, %
250	0	3 000	80
750	15	11 400	93,6
1000	66		

Значительна  
и выше видна  
димеризации

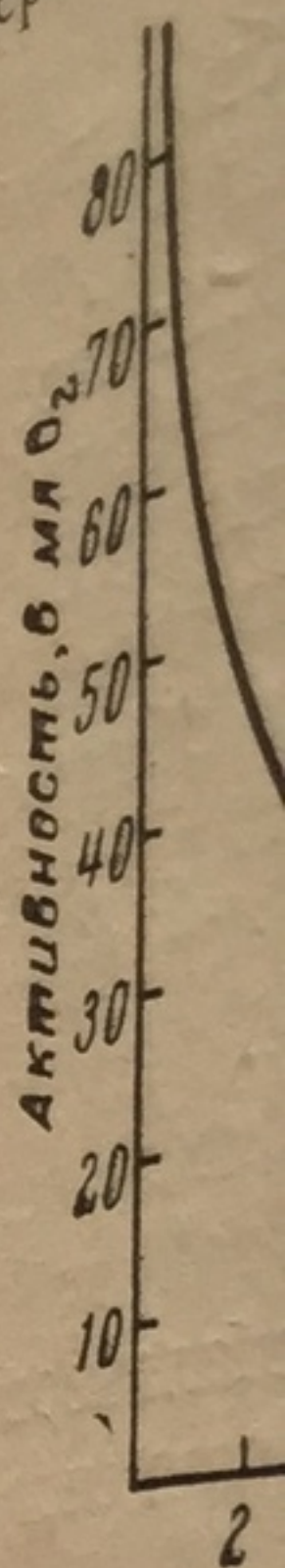


Рис. 52. Инаktivация *d*-аминокислотной оксидазы  $\alpha$ -лучами при различных дозах облучения.

При облучении (2,5 · 10<sup>-5</sup> г/мл) инаktivированым.

Уилсон [30] показал, что радиочувствительность фермента в растворе ДНК повышается почти полностью в присутствии сорбентов (хондрин) набухшего (10—1

Сравнительно показали, что радиочувствительность фермента повышается в присутствии сорбентов (хондрин) набухшего (10—1

8 А. М. Кузнецов



Значительная инактивация фермента при дозах 750—1000  $p$  и выше видна из графика (рис. 53), показывающего ход деполимеризации ДНК под влиянием облученных ферментов.

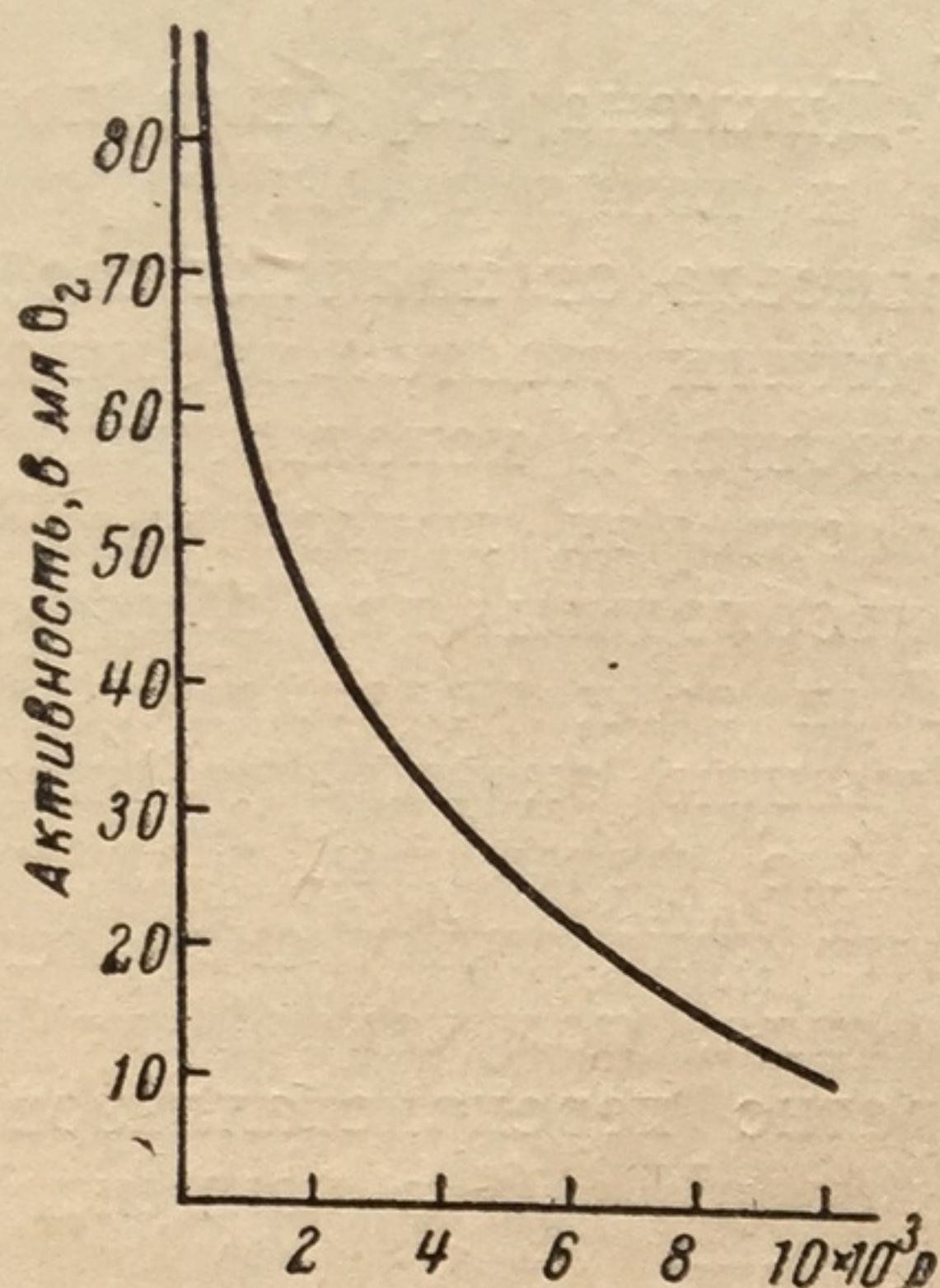


Рис. 52. Инактивация оксидазы  $d$ -аминокислот различными дозами рентгеновых лучей

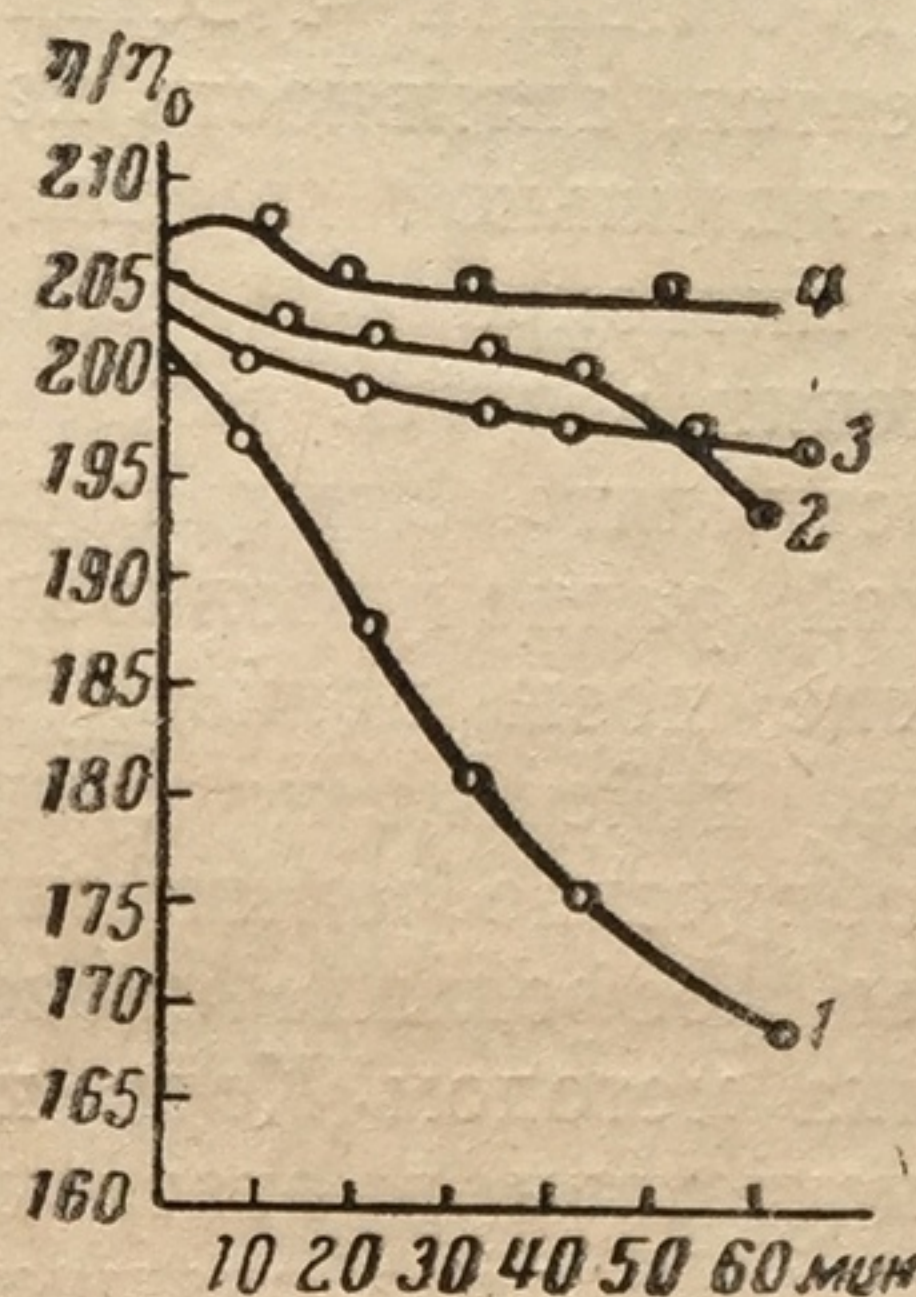


Рис. 53. Изменение относительной вязкости полимерной ДНК под действием фермента, облученного различными дозами рентгеновых лучей  
1 — контроль; 2 — облучение при дозе 1000  $p$ ; 3 — 3000  $p$ ; 4 — 11 400  $p$

При облучении растворов кристаллической рибонуклеазы ( $2,5 \cdot 10^{-5}$  г/мл) рентгеновыми лучами дозой в 13 500  $p$  фермент инактивировался только на 50%, т. е. оказался более устойчивым.

Уилсон [30], исследуя инактивацию сухой ДНК-азы, показал, что радиочувствительность зависит от состояния среды, в которой фермент находился до высушивания. Присутствие ДНК и возможность образования комплекса ДНК — ДНК-аза значительно повышает радиорезистентность последней. В экспериментах Флетчера и Окада [31] также было показано, что если в растворе ДНК-азы I облучение дозой в 1000  $p$  уже приводило к почти полной инактивации (90—100%), то в присутствии различных сорбентов (целлюлоза, смола Дауекс-50, взвесь митохондрий) наблюдалась лишь незначительная инактивация фермента (10—15%).

Сравнительно чувствительными к ионизирующей радиации оказались разбавленные растворы кристаллической карбокси-пептидазы [32]. Облучая эти растворы рентгеновыми лучами, можно было обнаружить потерю почти 50% активности уже при дозе 560  $p$ , причем эта чувствительность зависела от концентрации фермента.



Если в очень разбавленных растворах можно было наблюдать инактивацию при сравнительно небольших дозах радиации, то повышение концентрации фермента приводило к резкому увеличению его устойчивости.

Наконец, работами Баррона и Дикмена [33] была показана весьма большая чувствительность к ионизирующей радиации ферментов, активность которых зависела от наличия свободной сульфгидрильной группы. Эти ферменты тщательно очищались путем многократной перекристаллизации и использовались при облучении в очень разбавленных растворах, приготовленных на тридистилляте. Эти условия были необходимы для обнаружения высокой радиочувствительности. При этих условиях даже небольшие дозы ионизирующей радиации оказывали инактивирующее действие на сульфгидрильные ферменты. Так, например, облучение рентгеновыми лучами кристаллической дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида, полученной из мышц кролика методом Кори и многократно перекристаллизованной в присутствии глутатиона при  $0^{\circ}$  и рН 7,0 в концентрациях  $2,5 \cdot 10^{-7}$  М, дало следующие результаты (табл. 26).

Таблица 26

Инактивация дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида при облучении

Доза, р	Активность фермента	Подавление, %	Доза, р	Активность фермента	Подавление, %
Контроль	4,80	—	200	2,43	50
25	4,80	—	300	0,98	80
50	4,80	—	400	0,98	80
100	3,81	21	500	0,25	94

Из цифр, приведенных в таблице, видно, что активность дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида резко падает при весьма незначительных дозах облучения, и почти полная инактивация наблюдается при дозе 500 р. Весьма чувствительна к облучению и аденозинтрифосфатаза. Облучение раствора этого фермента с концентрацией 20 мкг в 1 мл при рН 9,1 дало следующие результаты:

Доза облучения (в р) . . . . .	10	50	100	250	500	1000
Угнетение фермента (в %) . . . . .	10	20	32	60	63	95

Чувствительность к облучению значительно повышалась после хранения раствора фермента при  $3^{\circ}$  в течение недели, как видно из следующих данных:

Доза облучения (в р) . . . . .	1	5	10
Угнетение фермента (в %) . . . . .	30	45	52



В развитие этих работ Барроном с сотрудниками [34, 35] было показано, что кристаллическая дрожжевая алкогольдегидрогеназа в разбавленных растворах ( $6,25 \times 10^{-10}$  М/мл) очень чувствительна к облучению. Уже при дозах в 300 р наблюдалась ее полная инактивация. Доза в 25 р вызывала 11% угнетения. Ионный выход был равен 1,1, что могло быть, по мнению авторов, полностью объяснено окислением SH-групп фермента свободными радикалами воды.

Однако не все ферменты, содержащие сульфгидрильную группу, обнаруживают столь высокую радиочувствительность. Так, кристаллическая уреаза даже в очень малых концентрациях (1,7 мкг в 1 мл) при дозе 200 р инаktivировалась только на 30%.

Устойчивость к облучению у гексокиназы и сукциноксидазы была значительно выше.

В случае дрожжевой кристаллической гексокиназы при концентрации 12 мкг/мл следовало применять дозы 1000—2000 р, чтобы подавить активность на 12—18%. Чтобы инаktivировать кристаллическую сукциноксидазу, приходилось повышать дозы до 5000 р, и то только при условии сильного разведения фермента (0,05 мкг в 1 мл); в десять раз большие концентрации уже не инаktivировались в этих условиях. Таким образом, мы видим, что и среди ферментов, содержащих активную сульфгидрильную группу, только некоторые оказались весьма чувствительными к облучению. Эта высокая чувствительность зависела от вида ионизирующей радиации. Исследования действия  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -лучей на разбавленные растворы дегидрогеназы фосfogлицеринальдегида показали, что во всех случаях происходит инаktivация, пропорциональная полученной дозе.  $\alpha$ -лучи оказались более эффективными, чем  $\beta$  и  $\gamma$ . В качестве источника  $\alpha$ -лучей в этих опытах был использован полоний.  $\beta$ -Облучение осуществлялось  $\text{Sr}^{89}\text{Cl}_2$ , а для  $\gamma$ -облучения был взят радий, заключенный в латунную трубку. Кристаллическая дегидрогеназа фосfogлицеринальдегида облучалась в концентрациях  $2,5 \cdot 10^{-7}$  М. Результаты представлены в табл. 27.

Легкая инаktivация ферментов, содержащих сульфгидрильную группу, несомненно частично обусловлена окислением сульфгидрильной группы в дисульфидную радикалами гидроксила, образующимися при облучении разбавленных растворов фермента. На это указывает частичная возможность реактивации фермента восстановленным глутатионом, который, как известно, восстанавливает группу S—S в SH. Однако из данных табл. 28 следует, что только частичная инаktivация обусловлена окислением SH-групп в S—S-группы.

По-видимому, наряду с этим окислением идет и более глубокое необратимое окисление молекулы фермента, так как при



Таблица 27  
Инактивация дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида в зависимости от вида радиации

Характер облучения	Доза, p	Подавление активности фермента, %
α-лучи	14	58
	29	73
	56	92
	88	100
β-лучи	14	10
	29	17
	56	32
	88	37
γ-лучи	25	17
	50	54
	200	67

ных ферментов, содержащих сульфгидрильную группу, к ионизирующей радиации может быть обнаружена только при облучении чистых, весьма разбавленных растворов ферментов. Устойчивость фермента повышается не только при возрастании его концентрации, но и в присутствии многих посторонних органических веществ. Наиболее сильное «защитное» действие оказывают вещества, содержащие сульфгидрильную группу, которые как бы конкурируют с ферментом за радикалы гидроксила.

Это защитное действие веществ хорошо видно из сводки опытных данных, представленной в табл. 29.

Таблица 28  
Подавление и реактивация дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида

Доза, p	Подавление, %	Реактивация глутатионом, %
100	21	100
200	50	62
500	94	10

Таблица 29

Защитное действие глутатиона при облучении ферментов [33]			
Фермент	Защитное вещество	Доза, p	Подавление, %
Сукциноксидаза . . . . .	—	5000	95
То же . . . . .	Глутатион	5000	23
Фосфоглицериндегидрогеназа . . . . .	—	200	50
То же . . . . .	Глутатион	200	9

полной его инактивации только частично удается восстановить его активность глутатионом. Для некоторых ферментов окисление сульфгидрильных групп, по-видимому, существенно для процесса инактивации. Так, если в уреазе блокировать сульфгидрильную группу п-хлормеркурибензоатом, то облучение не инактивирует фермента, и его активность может быть полностью восстановлена глутатионом.

Однако следует подчеркнуть, что большая чувствительность отдель-



Еще большего внимания заслуживает то обстоятельство, что и многие другие вещества, присутствуя в растворе фермента, оказывают значительное защитное действие. Это хорошо иллюстрируется данными табл. 30.

Таблица 30

Защитное действие различных веществ на инактивацию карбоксипептидазы (10 мг в 1 мл) [36]

Защитное вещество	Относительная защитная сила $Q^*$	Защитное вещество	Относительная защитная сила $Q^*$
Вирус табачной мозаики	30	Формиат . . . . .	320
Кристаллический яичный белок . . . . .	17	Щавелевокислый натрий	1,5
Аланин . . . . .	39	Мочевина . . . . .	0,5
Глюкоза . . . . .	34	Тиомочевина . . . . .	1120

\*  $Q = \frac{D(P+E) - DE}{P}$ , где  $DE$  — доза (в  $p$ ) для инактивации на 37%,  $D(P+E)$  — доза (в  $p$ ) в присутствии защитного вещества,  $P$  — количество защитного вещества в 1 мл.

Исследование защитных свойств различных веществ, проведенное на оксидазе  $d$ -аминокислот, инактивирующей более чем на 90%, при дозе 4500  $p$ , показало, что для получения 50% защиты достаточно присутствие в растворе:

	Концентрация, $M$		Концентрация, $M$
$l$ -аланина . . . . .	$10^{-6}$	Na-нуклеата (дрожжевого тимоноклеата) . . . . .	$10^{-8}$
Лейцил-глицина . . . . .	$10^{-6}$	Глюкозы . . . . .	$10^{-7}$
Глицина . . . . .	$10^{-5}$	Фруктозы . . . . .	$10^{-8}$
Na-гиппурата . . . . .	$10^{-7}$	Сахарозы . . . . .	$10^{-7}$
Na-оксалата . . . . .	$10^{-5}$	$NaNO_2$ . . . . .	$10^{-8}$
Na-формиата . . . . .	$10^{-7}$	$NaNO_3$ . . . . .	$10^{-5}$

Из приведенных данных следует, что самые разнообразные вещества могут оказывать значительное защитное действие. Как правило, более легко окисляющиеся вещества, являющиеся хорошими акцепторами для радикала гидроксила, наиболее хорошо предохраняют некоторые ферменты. Однако не для всех ферментов большое значение имеет защита от радикалов гидроксила.

Наблюдая защитное действие различных веществ на инактивацию каталазы, мы видим, что наиболее активными в этом отношении будут акцепторы свободного водорода, в то время как легко окисляющиеся вещества только усиливают инактивацию фермента (табл. 31).



Значительным защитным эффектом обладают наиболее легко поглощающие активный водород вещества: малеиновая кислота, окисленный глутатион и цистин.

Таблица 31

Защитное действие различных веществ (0,1 мМ) на активность кристаллической каталазы в концентрации  $3,7 \cdot 10^{-6}$  г/мл при рН 7,4 и дозе облучения 12 400 р

Защитное вещество	Инактивация, %
Контроль . . . . .	$53,9 \pm 1,4$
Кислота	
малеиновая . . . . .	$30,9 \pm 3,2$
малоновая . . . . .	$54,3 \pm 2,1$
янтарная . . . . .	$40,8 \pm 0,9$
пировиноградная . . . . .	$40,8 \pm 1,7$
левулиновая . . . . .	$46,3 \pm 3,6$
Глутатион	
восстановленный . . . . .	$71,0 \pm 3,7$
окисленный . . . . .	$30,2 \pm 1,3$
Цистеин . . . . .	$67,5 \pm 7,4$
Цистин . . . . .	$28,6 \pm 1,4$

Повышение устойчивости фермента при усложнении облучаемой системы может быть продемонстрировано на примере опытов Дейла [27] с облучением оксидазы *d*-аминокислот, которая построена из аллоказинадениндинуклеотида и легко отделяемого специфического протеина.

При облучении каждого компонента в отдельности наблюдается большее подавление активности, чем при облучении их комплекса; еще большая защита отмечается в присутствии необлученного белка (табл. 32).

Защитное действие многих органических веществ и, в первую очередь, белков, аминокислот и углеводов, т. е. веществ, в окружении которых ферменты находятся в живых клетках, заставляет думать, что при

Таблица 32

Зависимость ферментативной активности от облучения отдельных компонентов фермента

Исследуемая система	Ферментативная активность
Д + П + А	59 (контроль)
[Д] + [П] + А	5,6
[Д + П] + А	18,6
[Д + П] + П + А	51,6

Примечание. Д — динуклеотид, П — специфический протеин, А — аланин; облучение 4500 р.



облучении живых организмов вряд ли будут происходить те реакции, какие можно наблюдать в очищенных разбавленных растворах ферментов.

Действительно, если кристаллическая уреаза в ее разбавленных растворах уже при 200 *p* инактивировалась на 30%, то при облучении соевой муки 2 000 000 *p* (катодные лучи) наблюдалось лишь 8% инактивации уреазы [37].

Можно было бы привести много примеров резкого (в десятки тысяч раз) повышения устойчивости фермента при переходе от очищенных препаратов к живым системам.

Для того чтобы инактивировать пероксидазу в сыром молоке при облучении его высоковольтными катодными лучами, требовалось 200 000 *p*, а для разрушения фосфатазы 15 000 000 *p*. При облучении трипсина, пепсина и папаина, содержащихся в природных продуктах, дозами в 3 000 000 *p* разрушения не достигалось. Амилазы в ячмене инактивировались только на 14% при дозе 900 000 *p*.

Были проведены исследования по инактивации кристаллических ферментов бомбардировкой сухих препаратов дейтронами,  $\alpha$ -частицами или электронами для определения их молекулярного веса (чувствительного объема) [38—40]. В некоторых работах [39, 41] сравнивались результаты, полученные при облучении изолированного фермента и сухих микроорганизмов. Были получены совпадающие результаты, свидетельствующие о том, что молекулы фермента в клетке и в кристаллическом препарате имеют одинаковый объем [42]. Это направление исследований было обобщено в обзорных работах Полларда с сотрудниками и других ученых [43, 44].

Однако находимый этим путем «чувствительный объем» далеко не всегда соответствует реальному размеру молекулы, так как его величина в значительной мере зависит от условий эксперимента. Так, например, исследование «сечения» сухой инвертазы дало при одних условиях эксперимента величину в 2400  $\text{\AA}^2$  [45], а при других 4100  $\text{\AA}^2$  [46]. Александер [17] вычислял молекулярный вес трипсина из данных по его инактивации в вакууме, в присутствии воздуха и при воздействии различных источников радиации, и нашел величины:  $4,2 \times 10^4$ ,  $6,6 \times 10^4$ ,  $9,0 \times 10^4$ , в то время как молекулярный вес, определенный физико-химическими методами, был  $2,3 \times 10^4$ .

\* \* \*

Суммируя имеющиеся данные о влиянии ионизирующей радиации на ферменты *in vitro*, следует прежде всего подчеркнуть весьма различную радиочувствительность этих веществ. При облучении разбавленных растворов, чистых кристаллических ферментов наблюдается инактивация фермента в одних случаях при дозах в несколько сот тысяч рад (например, протеолитиче-



ские ферменты), в других — уже при дозах 400—500 рад (например, дегидрогеназа фосфоглицеринового альдегида).

Характерным является легкая защита ферментов и значительное повышение их радиоустойчивости в присутствии белка, глюкозы и других веществ.

Многие ферменты, легко инактивируемые радиацией при облучении их чистых растворов, оказываются довольно устойчивыми в своей естественной среде.

Инактивация белка-фермента тесно связана с денатурационными процессами, наступающими в белке, и особенно с окислительной деструкцией активной простетической группы фермента.

В связи с возможной деструкцией простетических групп ферментов представляет интерес проследить за непосредственным действием ионизирующей радиации на витамины, ввиду их большой роли в построении простетических групп ферментов.

Исследование действия ионизирующей радиации на растворы чистых, кристаллических витаминов показало весьма различную их радиочувствительность.

Наиболее легко происходил окислительный распад аскорбиновой кислоты (витамин С).

Окисляемость аскорбиновой кислоты была показана на чистых растворах под влиянием радиоактивных излучений растворенных солей уранила [47] и облучения рентгеновыми лучами [48, 49]. Однако для заметного окисления необходимо было прибегать к дозам 5000—16 000 р.

Конечно, и в этом случае присутствие многих веществ в растворе оказывало сильное защитное действие.

Сохраняемость чистых растворов витамина РР — никотиновой кислоты (ниацин) [50] при облучении зависит прежде всего от концентрации витамина. Как видно из рис. 54, при концентрации 100 мкг/мл распада витамина не наблюдается даже при дозе 250 000 р; при меньших концентрациях ниацин разрушается.

Даже в очень разбавленных растворах требуются значительные дозы (сотни тысяч рентгеновых единиц), чтобы вызвать ощутимые потери витамина, что указывает на его значительную радиорезистентность (рис. 55). Это хорошо согласуется с известной химической устойчивостью этого витамина. Высоковольтные катодные лучи вызывали несколько более энергичный распад ниацина, причем указанные выше закономерности в основном повторялись.

Влияние высоковольтных рентгеновых и катодных лучей (3000 кВ) на чистые растворы рибофлавина было подробно изучено Гольдблитом и Проктором [51]. Полученные данные представлены на рис. 56 и 57.

При достаточно высоких дозах идет сильное разрушение ри-

бофлавина  
ции раство  
при 267 м  
но для пре

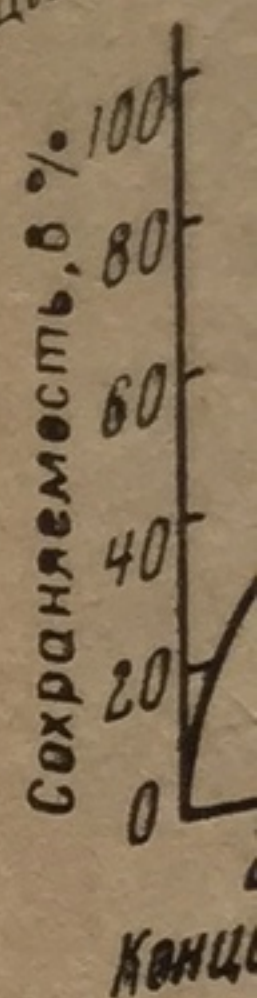


Рис. 54.  
витами  
мость  
вольтн

Больш  
рах свид  
известная

другим)  
окислен  
атомарн  
микрома  
При  
концент  
50% ви  
вается



бофлавина, на что указывает резкое изменение спектра адсорбции раствора в ультрафиолетовой области (рис. 58). Максимум при 267 мкк исчезает и появляется при 255 мкк, что характерно для превращения рибофлавина в люмихром.

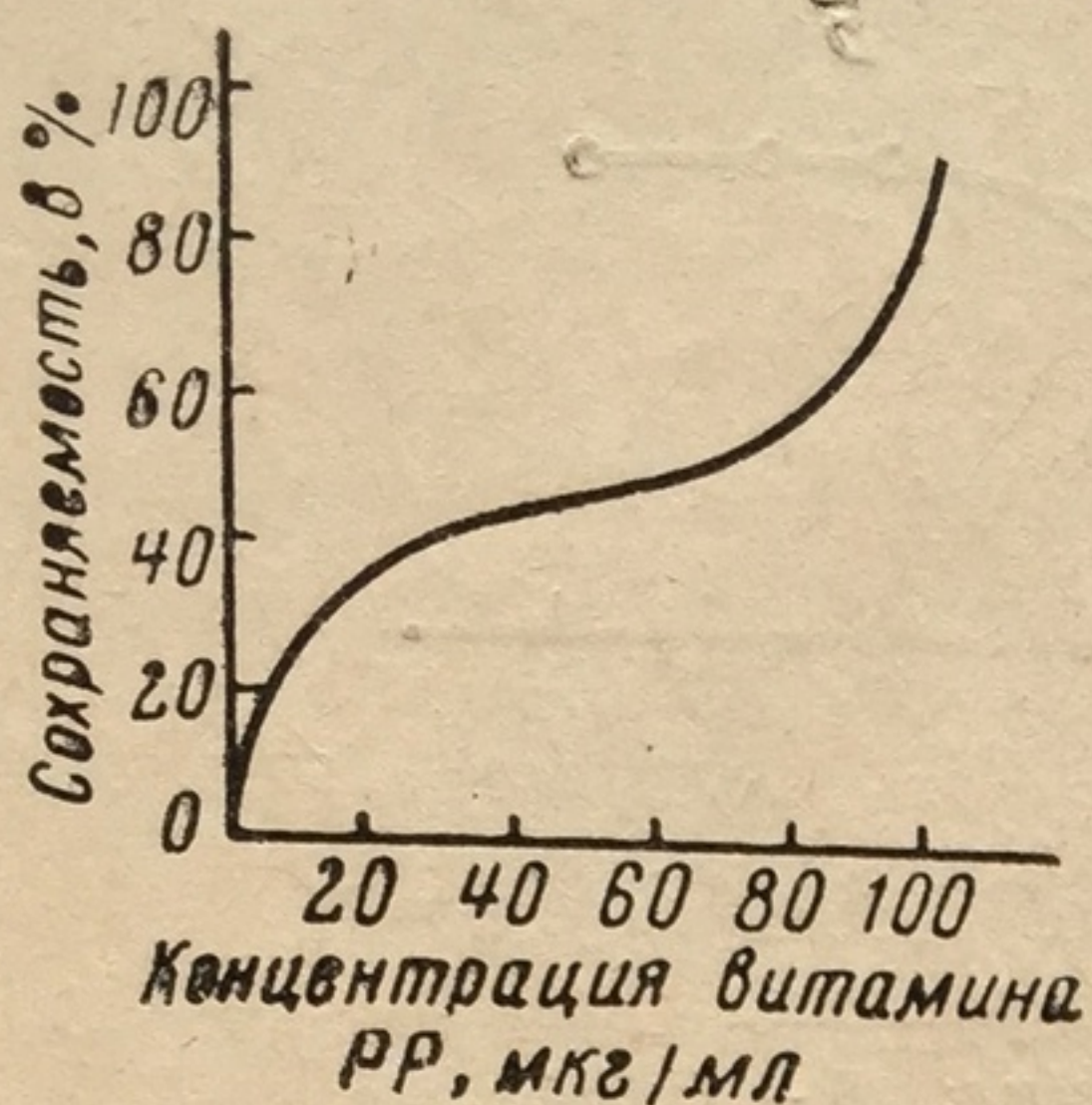


Рис. 54. Влияние концентрации витамина РР на его сохранность при облучении высоковольтными рентгеновыми лучами (250 000 р)

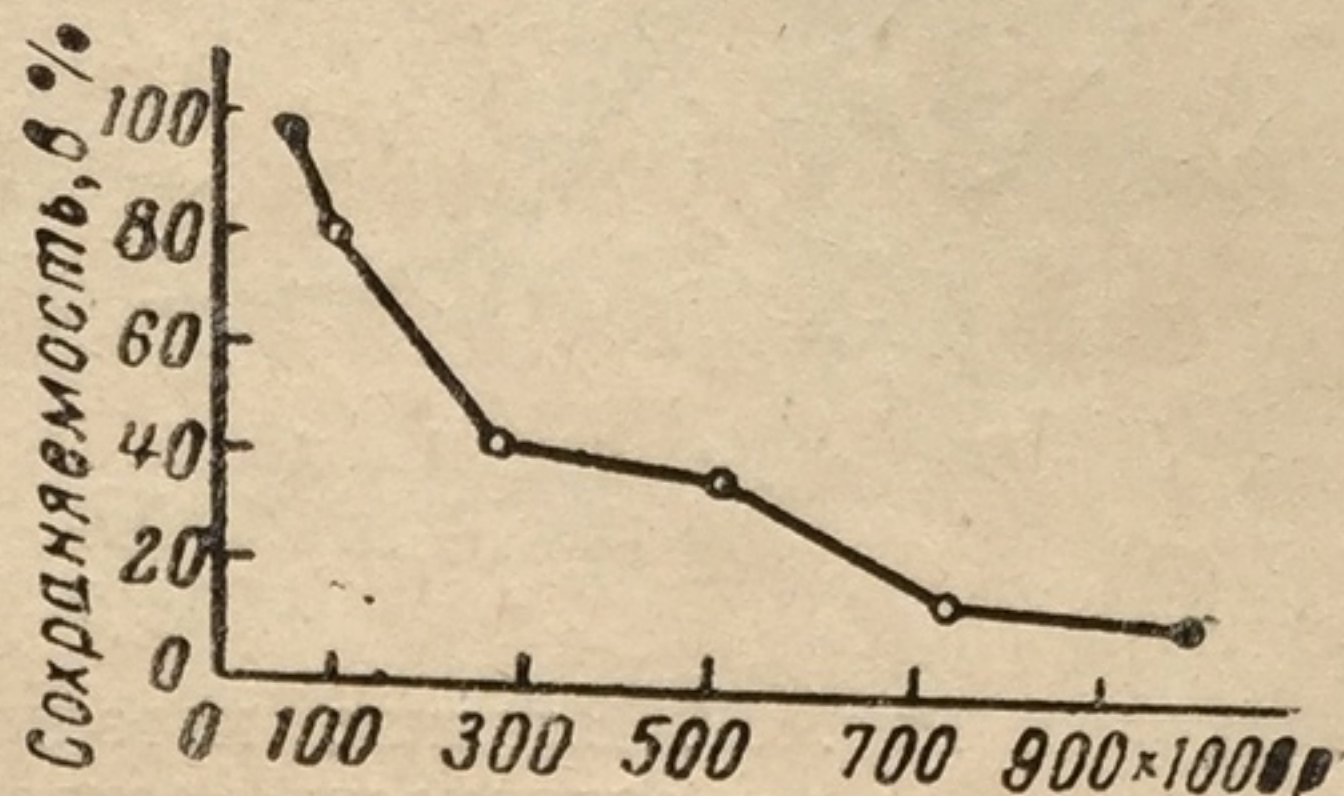


Рис. 55. Влияние различных доз рентгеновых лучей на сохранность витамина РР в чистых растворах (концентрации витамина 50 мкг/мл)

Большое разрушение рибофлавина в разбавленных растворах свидетельствует о непрямом действии радиации. Однако известная устойчивость рибофлавина к окислителям ( $H_2O_2$  и

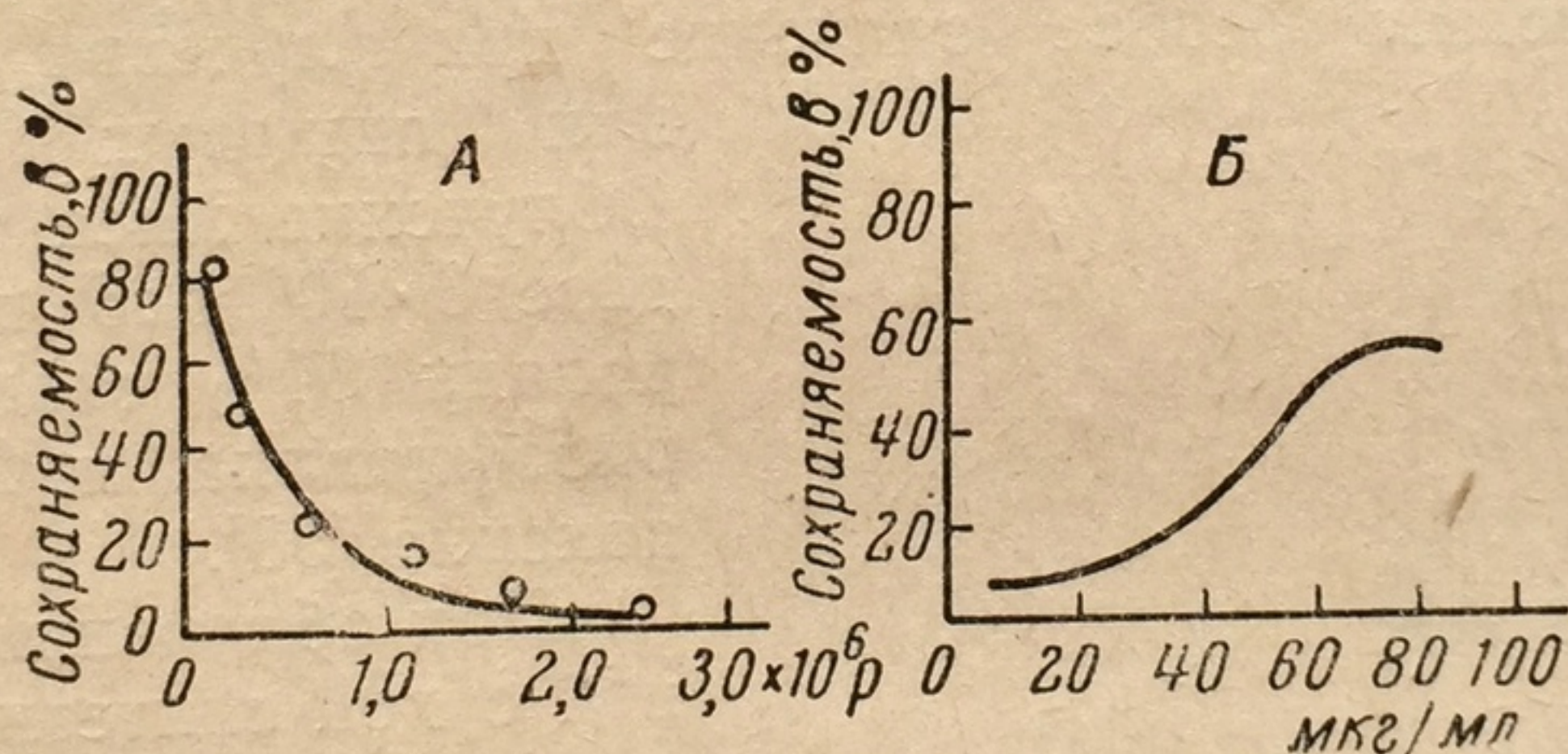


Рис. 56. Влияние рентгеновых лучей на активность растворов рибофлавина  
А — рентгеновые лучи (3000 кв), рибофлавин (100 мкг/мл);  
Б — изменение концентрации рибофлавина при облучении дозой в 50 000 р

другим) не позволяет допускать, что распад происходит путем окисления. Можно думать, что рибофлавин восстанавливается атомарным водородом в лейкофлавин или распадается до люмихрома.

При облучении растворов каротина в петролейном эфире в концентрации 100 мг/мл при дозе  $0,66 \cdot 10^6$  р наблюдался распад 50% витамина. И в этом случае реакция распада также усиливается с разбавлением, но поскольку растворителем является



петролейный эфир, неясно, какие радикалы, образующиеся в момент облучения, влияют на распад каротина; не выяснены и продукты его распада.

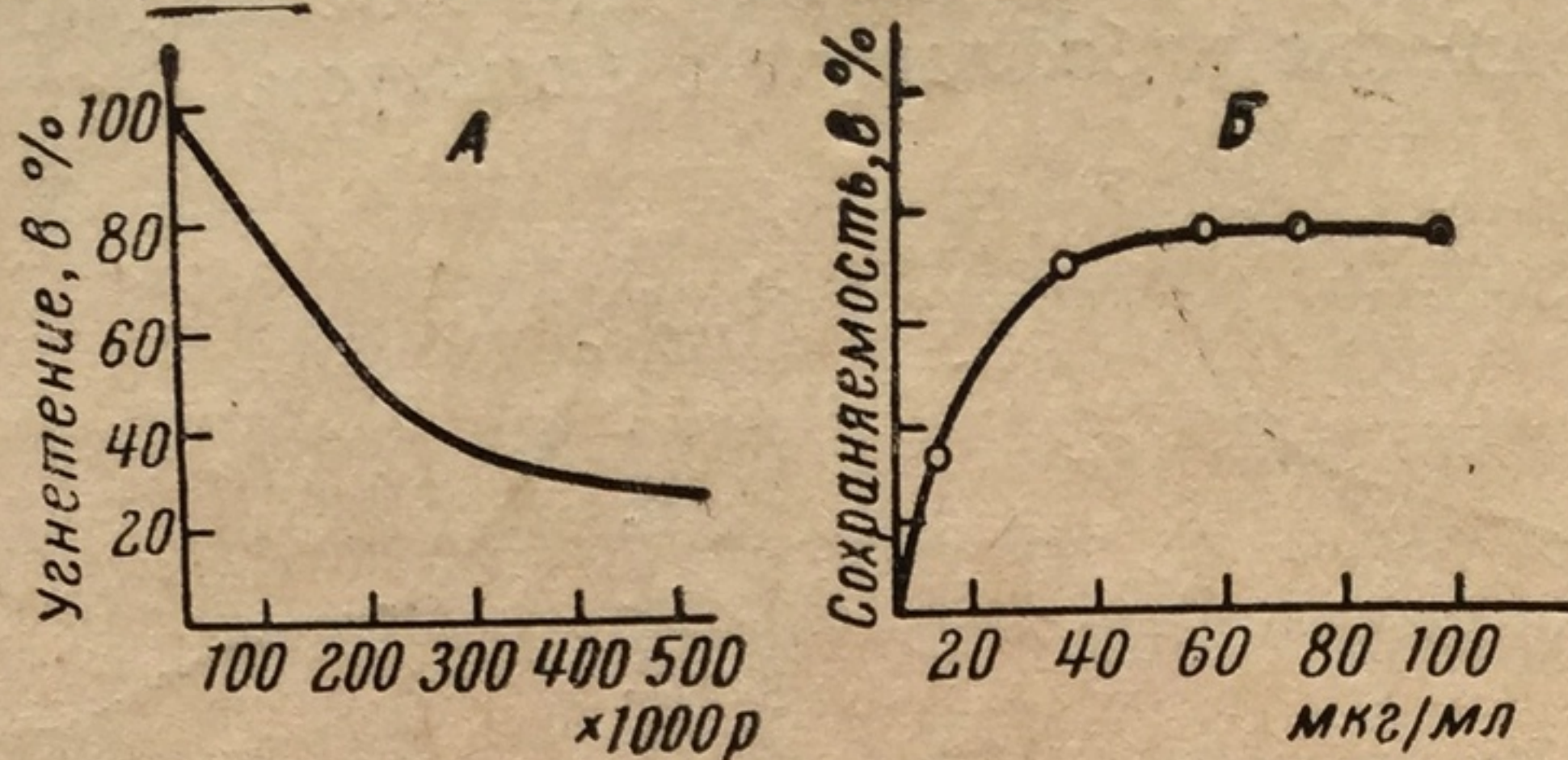


Рис. 57. Влияние катодных лучей (3000 кВ) на активность растворов рибофлавина

А — концентрация рибофлавина 100 мкг/мл; Б — рибофлавин взят в различных концентрациях при  $0,33 \cdot 10^6 p$

Облучение витамина  $B_{12}$  в водных растворах быстрыми электронами с энергией 3 МэВ (источник генератор Ван дер Граафа) показало, что начиная с дозы в 200 p наблюдалось заметное разрушение витамина [52]. Устойчивость витамина резко возросла при облучении в сыром цельном молоке, как это видно из данных табл. 33.

Вопрос об устойчивости витаминов к действию радиации приобретает особое значение при лучевой консервации пищевых продуктов.

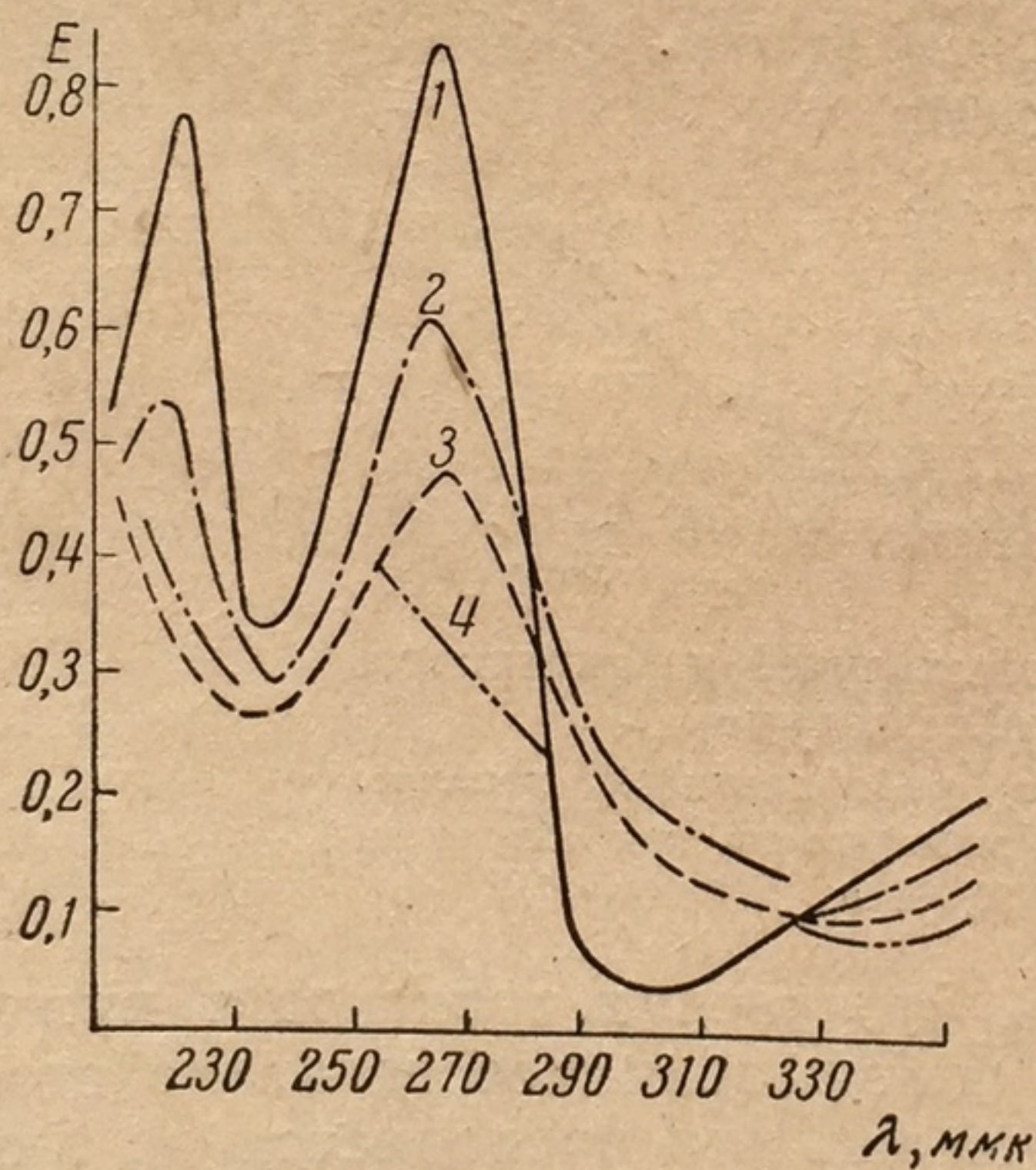


Рис. 58. Влияние высоковольтных рентгеновых лучей на ультрафиолетовую абсорбцию растворов рибофлавина  
1 — контроль; 2 — 50 000 p; 3 — 100 000 p; 4 — 250 000 p

Облучение мяса  $\gamma$ -лучами в дозе  $3 \cdot 10^6 \text{ рад}$  приводит к распаду 64% тиамина, 10% рибофлавина и 25% пиридоксина [53].

При облучении стандартной сухой синтетической диеты, содержащей витамины, и специальной смеси витаминов с казеином (также в сухом виде), даже при дозе  $2,79 \times 10^6 \text{ рад}$ , не наблюдалось заметного распада тиамина, рибофлавина, пиридоксина, пантотеновой и фолевой кислот. При облучении же этой диеты в водном растворе было отмечено значительное снижение содержания витаминов, определяемых путем биологи-

ческой пробы  
пиридоксина  
вином и панто  
ных раствора  
левой кислоты  
центрации 50

Вли

Доза, p	ра дист но 15
2 500	
4 500	
8 100	
14 600	

Как видно  
своей химиче  
друг от друг  
Особенно  
творях с акти

# ЛИТЕРАТУРА

1. J. I. North
2. M. Bier, F.
3. R. Anders
4. M. McDon
5. M. McDon
6. E. Moore,
7. R. Anders
8. M. Loken,
9. J. X. Эй д
10. J. X. Эй д
11. J. X. Эй д
12. J. X. Эй д
13. J. X. Эй д
14. W. Gordy
15. W. Gordy
16. J. X. Эй д
17. P. Alexa
18. P. Alexa



ческой пробы. Наиболее сильно разрушался тиамин. Распад пиридоксина был несколько бóльшим по сравнению с рибофлавинами в водных растворах (при содержании 300 мг/мл). От 50 до 75% фолиевой кислоты сохранялось при облучении ее растворов в концентрации 50 мг/мл [54].

Таблица 33

Влияние облучения на сохраняемость витамина В<sub>12</sub>

Доза, p	Сохранение витамина, %		Доза, p	Сохранение витамина, %	
	раствор в дистиллированной воде, 15 мг/мл	раствор в сыром цельном молоке, 0,0049 мг/мл		раствор в дистиллированной воде, 15 мг/мл	раствор в сыром цельном молоке, 0,0049 мг/мл
2 500	77		50 000		100
4 500	67		100 000		75
8 100	52		250 000		67
14 600	31		500 000		69

Как видно из приведенных экспериментов, различные по своей химической природе витамины очень резко отличаются друг от друга по своей радиочувствительности.

Особенно легко происходит распад витаминов в водных растворах с активным участием радикалов воды.

## ЛИТЕРАТУРА

1. J. I. Northrop. J. Gen. Physiol., **17**, 359, 1934.
2. M. Bier, F. Nord. Arch. Biochem. a. Biophys., **35**, 1, 204, 1952.
3. R. Anderson. Biol. Bull., **93**, 189, 1950; Federat Proc., **9**, 6, 1947.
4. M. McDonald. Brit. J. Radiol., **27**, 62, 313, 1954.
5. M. McDonald E. Moore. Radiation Res., **2**, 426, 1955.
6. E. Moore, M. McDonald. Radiation Res., **3**, 38, 1955.
7. R. Anderson. Brit. J. Radiol., **27**, 56, 1954.
8. M. Loken, J. Stenstrom, H. Marvin, D. Mosser. Radiation Res., **11**, 72, 1959.
9. Л. Х. Эйдуc, Н. В. Кондакова, Г. К. Отарова. Биофизика, **3**, 215, 1958.
10. Л. Х. Эйдуc, Е. Э. Ганасси. Биофизика, **4**, 215, 1959.
11. Л. Х. Эйдуc, Е. Э. Ганасси. Биофизика, **5**, 334, 1960.
12. Л. Х. Эйдуc, Е. Э. Ганасси. Биофизика, **5**, 523, 1960; Радиобиология, **1**, 14, 1961.
13. Л. Х. Эйдуc. Биофизика, **1**, 544, 1956.
14. W. Commoner, J. Townsen, G. E. Pake. Nature, **174**, 689, 1954.
15. W. Gordy, W. B. Ard, H. Shields. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., **41**, 983, 1955.
16. Л. Х. Эйдуc, Л. А. Каюшин. Докл. АН СССР, **135**, 1525, 1960.
17. P. Alexander. Radiat. Res., **6**, 653, 1957.
18. P. Alexander, M. Fox, K. Stacey, D. Rosen. Nature, **178**, 846, 1956.



19. D. Mazia, G. Blumental. J. Cellular a. Compar. Physiol., 35, Suppl. 1, 171, 1950.
20. A. Forssberg. Nature, 159, 308, 1947.
21. W. Dall, C. Russel. Nature, 175, 33, 1955.
22. R. Setlow, B. Doyle. Arch. Biochem. a. Biophys., 46, 31, 46, 1953.
23. L. K. Mee, G. Stein. Biochem. J., 62, 377, 1955.
24. H. Laser. Nature, 176, 361, 1955.
25. D. J. Fluke. Brookhaven Nat. Lab. Quart. Progress Report Ion, 1, 1956.
26. E. Barron, P. Talmadge. Radiation Res., 5, 468, 1956.
27. W. Dale. Biochem. J., 36, 80, 1942.
28. С. Е. Манойлов, Л. Семенов. Докл. АН СССР, 71, 359, 1950.
29. M. Dauer, J. Coon. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 74, 4, 702, 1952.
30. D. E. Wilson. Internat. J. Rad. Biol., 4, 360, 1959.
31. G. Fletcher, S. Okada. Radiations Res., 11, 291, 1959.
32. W. Dale, L. Gray, W. Meredith. Philos. Trans. Roy. Soc., London, 242, 33, 1949.
33. E. S. G. Barron, S. Dickman. J. Gen. Physiol., 32, 537, 595, 1949.
34. E. S. G. Barron, P. Johnson. Arch. Biochem. a. Biophys., 48, 149, 1954.
35. E. S. G. Barron. Ann. N. Y. Acad. Sci., 59, 574, 1955.
36. W. Dale. J. Cellular a. Compar. Physiol., 39, Suppl. 1, 39, 1952.
37. A. Brausch a. oth. Proc. Rudolf Virchow Med. Sci., 8, 1949.
38. J. Jagger, F. Hutchinson. Radiation Res., 2, 253, 1955.
39. W. F. Powell, E. S. Pollard. Radiation Res., 2, 109, 1955.
40. C. L. Smith. Arch. Biochem. a. Biophys., 45, 83, 1953.
41. F. Hutchinson, A. Preston. Radiation Res., 3, 236, 1955.
42. J. Jagger, D. Wilson. Radiation Res., 3, 127, 1955.
43. E. C. Pollard, W. R. Guild, F. Hutchinson, R. B. Setlow. Progr. Biophys., N. Y. Acad. Press, 5, 72, 1955.
44. E. C. Pollard. В кн.: «Radiobiology Sympos», London, 1954, p. 70.
45. E. C. Pollard, W. F. Powell, S. H. Redume. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 38, 173, 1952.
46. R. A. Deering. Radiation Res., 5, 238, 1956.
47. А. И. Серебренникова. Биохимия, 15, 204, 1950.
48. R. S. Anderson, B. Harrison. J. Gen. Physiol., 27, 69, 1943.
49. V. R. Proctor, S. E. Goldblith. Nucleonics, 5, 3, 56, 1949.
50. B. A. Proctor, S. E. Goldblith. Nucleonics, 3, 2, 32, 1948.
51. S. E. Goldblith, B. R. Proctor. Nucleonics, 5, 2, 50, 1949.
52. G. Markakis. Nucleonics, 9, 6, 71, 1951.
53. E. J. Day, H. D. Alexander, H. E. Sauberlich, W. D. Salmon. J. Nutr., 62, 27, 107, 1957.
54. L. R. Richardson, J. L. Martin, I. Hart. J. Nutr., 65, 409, 1958.
55. N. Mitsuno, T. Ohishi. Tohoku J. Agric. Res., 11, 371, 1960.

ВЛИЯНИЕ  
НА СОСТ  
В ЖИВО



## II раздел

---

# ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ И ТКАНЯХ



При  
под  
ткан  
низме, с  
ности.

1. По  
ствия)  
или ино  
видимом  
ний (де  
ков, обр  
гическое  
клетки  
принима  
облучени

Если  
ствию р  
тода исс  
тех же д  
менения  
ворить о  
каких-то

С дру  
ности ве  
характер  
состояни  
окружаю  
го, как  
все это  
ствитель  
ненные е  
изучаемо  
структур  
го дейст  
блемы я



При рассмотрении биохимических сдвигов, происходящих под влиянием ионизирующих излучений в живой клетке, ткани или органе и, наконец, в целом многоклеточном организме, следует прежде всего иметь в виду следующие возможности.

1. Под влиянием облучения (прямого или непрямого действия) нарушается нормальная структура макромолекул того или иного высокомолекулярного компонента живой клетки. Повидимому, особый интерес будет представлять изучение нарушений (деструкций) нативных структур простых и сложных белков, образующих собой как микроскопически видимое морфологическое строение ткани, так и субмикроскопическое строение клетки и клеточных органелл. При исследовании мы должны принимать во внимание данные модельных экспериментов по облучению этих веществ *in vitro*.

Если *in vitro* они оказались достаточно устойчивыми к действию радиации (с учетом чувствительности примененного метода исследования), то маловероятно предполагать, что при тех же дозах *in vivo* они будут разрушаться. Обнаружение изменения этих же самых веществ *in vivo* будет в этом случае говорить о вторичности наблюдаемого процесса в силу нарушения каких-то процессов обмена.

С другой стороны, обнаружение большой радиочувствительности веществ *in vitro* еще, конечно, ничего не говорит нам о характере их изменений *in vivo*. Концентрация вещества, особое состояние воды в живых структурах, защитное действие многих окружающих веществ и, наконец, состояние вещества, входящего, как правило, в сложные субмикроскопические структуры, — все это может существенным образом изменить его радиочувствительность. Принимая во внимание все эти факторы, осложненные еще все время идущими процессами синтеза и распада изучаемого вещества, легко понять трудность в обнаружении структурных изменений, происходящих за счет непосредственно действия радиации. Одним из средств к решению этой проблемы является исследование изучаемого вещества непосред-



ственно после облучения. При этом следует всегда иметь в виду, особенно при изучении веществ в тканях животного организма, наличие быстро действующих регуляторных механизмов (нейрогуморальные), которые могут «имитировать» непосредственное влияние радиации. Сопоставление результатов, получаемых для различных групп организмов (например, животные, растительные и микроорганизмы), находящихся в различном физиологическом состоянии, часто позволяет выделить первичные процессы.

2. В живых системах непрерывно происходит ферментативный распад веществ, который ускоряется под влиянием облучения. Усиление распада, как правило, указывает или на активацию соответствующих ферментных систем или на появившуюся возможность их действия на субстрат, которая до облучения отсутствовала. Таким образом, усиление распада большей частью является вторичным процессом, тесно связанным с нарушением активности ферментов. Поэтому целесообразно эти явления рассматривать одновременно. При возникновении таких процессов следует иметь в виду две возможности. Первая заключается в усилении нормально идущих ферментативных процессов распада. Такое усиление приведет к количественным сдвигам: уменьшению количества изучаемого вещества и увеличению ряда метаболитов, образующихся в клетке и в нормальных условиях. Следует иметь в виду, что такое количественное повышение нормальных метаболитов может иметь серьезные последствия для дальнейшей судьбы клетки, ткани, организма.

Вторая возможность заключается в появлении в клетке аномальных метаболитов. Вследствие многоступенчатости большинства ферментативных реакций распада, регулируемых множественной системой ферментов, весьма вероятно, что под влиянием облучения изменится активность лишь части этих ферментов. Это приведет к нарушению слаженного процесса многоступенчатого распада, станут накапливаться и подвергаться изменениям промежуточные (аномальные) метаболиты. Появление аномальных метаболитов — один из возможных путей образования «радиотоксинов», вызывающих в свою очередь глубокие изменения обмена веществ облученного объекта.

3. Под влиянием облучения нарушается синтез изучаемого вещества. Это явление еще более сложное. Как правило, синтез в живой клетке идет нормально при условии:

- а) притока предшественников изучаемого вещества в должном количестве и соотношении;
- б) наличия макроэргических соединений, дающих энергию для реакции синтеза;
- в) активации предшественников;
- г) наличия ферментной системы, осуществляющей синтез;

д) наличия делящихся ход структуры макро

Нарушение л изменениям син

Под влияние дом звене, и у

из важных и на дователем. Кон

Может быть час тение. Возможн

няется качество при синтез сло

Наконец, не изучаемого вещ

тен там, где из тез различных

избыток предш вещества. Таки

правило, может Для правил

диации процесс попытаемся рас

ионизирующих 1) простых

2) сложных 3) углеводов

4) липидов, 5) минерал

В каждом шением ферме

нием активнос рассмотреть н

ферментов в



д) наличия определенных морфологических структур, определяющих ход синтетических процессов (включая кодирующие структуры макромолекул).

Нарушение любого из перечисленных условий будет вести к изменениям синтеза изучаемого вещества.

Под влиянием радиации можно ожидать изменений в каждом звене, и установление места повреждения является одной из важных и наиболее трудных проблем, встающих перед исследователем. Конечный результат также может быть различным. Может быть частичное торможение синтеза или его полное угнетение. Возможно также, что синтез количественно идет, но изменяется качество синтезируемого вещества. Это наиболее вероятно при синтезе сложных высокомолекулярных соединений.

Наконец, не исключено, что под влиянием облучения синтез изучаемого вещества усиливается. Этот случай наиболее вероятен там, где из одних и тех же предшественников возможен синтез различных веществ. Если синтез одного из них угнетен, то избыток предшественников может усилить синтез изучаемого вещества. Таким образом, воздействие радиации на синтез, как правило, может быть связано в клетке с изменением ряда систем.

Для правильного понимания возникающих под влиянием радиации процессов необходимо рассматривать их совместно. Мы попытаемся рассмотреть нарушения, происходящие под влиянием ионизирующих излучений в обмене:

- 1) простых белков,
- 2) сложных белков,
- 3) углеводов,
- 4) липидов,
- 5) минеральном.

В каждом из этих разделов мы будем сталкиваться с нарушением ферментативных процессов, т. е. с возможным изменением активности ферментов. Поэтому целесообразно вначале рассмотреть наши общие сведения об изменении активности ферментов в облученном организме.



## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ *in vivo*

**Х**арактер изменений активности ферментных систем в клетке или тканях организма имеет исключительно важное значение для понимания действия ионизирующей радиации на биологические объекты. Все процессы обмена неразрывно связаны и полностью определены сложными системами ферментов. Поэтому наиболее вероятно предположить, что воздействие радиации на ферменты или на структуры, определяющие согласованное действие многих ферментов в реакциях обмена, может привести к выпадению или искажению тех или иных жизненно необходимых реакций обмена, т. е. к видимым результатам лучевого поражения. Нарушением активности ферментов можно было бы легче всего объяснить две характерных особенности действия радиации на живые системы: первая — заметный биологический эффект при незначительных количествах поглощенной энергии и вторая — действие радиации проявляется спустя некоторый латентный период. Однако следует иметь в виду, что воздействие ионизирующей радиации на активность ферментов *in vivo* может осуществляться через ряд промежуточных систем и поэтому совершенно не обязательно непосредственное попадание ионизирующей частицы в молекулу фермента и разрушение последнего.

Механизм непосредственного действия радиации на фермент с разрушением молекулы и потерей активности мало вероятен для многих ферментов. Действительно, ранее нами было показано, что при облучении растворов многих ферментов, таких, как пепсин, трипсин, каталаза, цитохромоксидаза и другие, дозами, смертельными для большинства животных организмов (1—5 тыс. *p*), не наблюдалось заметной инактивации. При облучении этих же ферментов в сухом состоянии для заметной инактивации требовались сотни тысяч рентген. Эти данные говорят против возможности инактивации ферментов в живой клетке непосредственным действием радиации (как прямым, так и через радикалы воды), но активность этих ферментов может быть



Глава I

снижена после облучения за счет быстро наступающих вторичных процессов.

Как мы видели выше, обширная группа ферментов оказалась весьма радиочувствительной при облучении их разбавленных растворов. К этим ферментам относились нуклеазы, карбокси-пептидазы, дегидрогеназы и многие другие. Все они в значительной степени теряли свою ферментативную активность уже при дозах облучения 500—2000 *p*; эти же дозы сильно поражают живые системы. Однако и в этом случае мы вряд ли имеем право переносить эти наблюдения на живой организм, так как уже в модельных опытах было показано, что присутствие многих веществ, таких, как белки, глюкоза, глутатион и другие, защищает эти ферменты. Таким образом, можно заключить что присутствие «защитных» веществ в живой клетке может превращать радиочувствительные *in vitro* ферменты в весьма устойчивые.

Наконец, как это мы увидим ниже, при облучении живых систем часто наблюдается не только понижение, но и значительное возрастание активности фермента, что никогда не происходит при облучении чистых, изолированных ферментов.

Все сказанное выше убеждает нас в том, что изменения активности ферментов под влиянием ионизирующей радиации не могут рассматриваться только как результат непосредственного попадания ионизирующей частицы в молекулу фермента и разрушения его активных группировок.

Несомненно, что эта проблема должна решаться с учетом многих факторов, действующих в живой клетке и определяющих активность ферментных систем.

К таким факторам, в первую очередь, относятся:

1) наличие активаторов и ингибиторов изучаемого фермента;  
2) активная реакция среды в микроне локализации фермента;

3) состояние поверхности раздела внутренних структур клетки, которое влияет на степень сорбируемости фермента, его проницаемость (а также проницаемость ингибитора), и на возможность соприкосновения фермента с субстратом;

4) изменения субмикроскопической организации клеточных органелл, ведущие к разобщению или сближению различных ферментов, и, тем самым, вызывающие изменение в сопряженной деятельности нескольких ферментов;

5) постоянно происходящий распад и синтез белка-фермента и возможность воздействия на сам процесс синтеза в живой клетке, а не на готовый фермент.

При облучении как изолированных клеток, так и сложного организма, не исключена возможность влияния радиации на любой из перечисленных факторов. В живом организме явление еще более осложнено нейрогуморальной регуляцией интенсив-



ности обмена (и, следовательно, активности ферментов), через которую также может проявляться влияние радиации.

Принимая во внимание все изложенное выше, попытаемся рассмотреть основной экспериментальный материал, полученный к настоящему времени.

Усилия многих исследований были направлены на то, чтобы доказать непосредственную инактивацию ферментов в живой клетке при ее облучении.

Попытки Мея [1] обнаружить изменение в активности трех сульфгидрильных ферментов сукциноксидазной системы — сукциноксидазы, сукциндегидрогеназы и цитохромоксидазы — при тотальном рентгеновском облучении белых крыс не привели к положительному результату. Активности этих ферментов в печени и почках сразу после облучения дозой 800 p (250 кв, 180 ма) не изменялись. Исследование дегидрогеназы янтарной и яблочной кислот, цитохромоксидазы и аденозинтрифосфатазы в зубной железе при облучении крыс  $\gamma$ -лучами  $Co^{60}$  дозой в 800 p также обнаружило полное сохранение их активности.

Активность аденозинтрифосфатазы, цитохромоксидазы и молочной дегидрогеназы в почках, селезенке и печени облученных крыс (доза 800 p) не изменялась в течение первых дней после облучения. Активность сукциноксидазы в почках и печени также не изменялась, а в селезенке несколько снижалась, особенно на второй день после облучения; снижение активности восстанавливалось введением L-цистеина перед облучением [2].

В работах Мейселя [3] и Бранда, Фримена и Свенсона [4] неоднократно отмечалась большая устойчивость дыхания дрожжевых клеток при облучении их ионизирующими излучениями. При дозе 5000 p дыхание дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*) оставалось совершенно нормальным, что указывает на полную сохранность всей сложной системы ферментов, участвующей в этом процессе.

Достаточно устойчив оказался и ряд дыхательных ферментативных систем у *Tetrachylena rugiforgi* при действии больших доз радиации (300 000—600 000 p) [5, 6]. Активность ксантиноксидазы печени в течение первых пяти дней после облучения не изменялась [7].

При облучении крысы дозой в 640 p не было обнаружено снижения активности дегидрогеназы триозофосфата в селезенке [8]. Активность дегидрогеназ изолимонной, молочной и яблочной кислот, а также цитохромредуктазы в хрусталике глаза кролика оставалась неизменной при его облучении дозой 1400 p за все время образования катаракты [9, 10].

Ранее мы показали, что изолированные нуклеазы уже при дозе в 1000 p инактивируются более чем на 50%, а при 11 000 p наступает их полная инактивация. Эйгель и Рот [11] определяли



активность рибонуклеазы (РНК-азы) и дезоксирибонуклеазы (ДНК-азы) по методу Маккарти у культуры *Tetrachylena gele-gii* и установили, что облучение рентгеновыми лучами в дозах 300 000 и 500 000 *p* не изменяло активности нуклеаз.

Исследование общей активности (т. е. рассчитанной на весь орган) ДНК-азы II в селезенке [12—14] и тимусе [14] крыс после тотального облучения (750 *p*) не показало изменения в первые 24 часа после облучения. Не уменьшалась активность ДНК-азы и в печени облученных мышей (780 *p*, 24 часа) [12, 15].

Исследование активности некоторых ферментов пуринового обмена [16] привело к выводу, что тотальное облучение крыс (600 *p*) не влияет на активность аденозиндезаминазы и нуклеозидфосфорилазы печени в течение 10 дней после облучения. При локальном облучении селезенки крыс в течение 12 час. после облучения не удавалось установить снижения активности аденозинтрифосфатазы, 5-нуклеотидазы и ферментов, осуществляющих синтез лимонной кислоты [4].

Альбаум [17] исследовал активность ферментов сыворотки крови кроликов после их облучения (750 *p*) и нашел, что через 6 и 24 часа после облучения не менялась активность дегидрогеназы глютаминовой кислоты, миокиназы, гексокиназы, дегидрогеназ фосфоглицеринового альдегида и яблочной кислоты, глютамино-пируват-трансаминазы и киназы фосфоглицерина. В литературе отмечена также устойчивость глютамино-щавелево-уксусной-трансаминазы, повышающей свою активность через 8—24 часа после облучения, но затем [18] быстро приходящую к норме.

Интересный эксперимент был осуществлен Смитом и Томсоном [19], которые облучали крыс и летучих мышей массивными дозами, приводящими к смерти под лучом. При мощности в 500 *p/мин* смерть наступала при достижении суммарной дозы 129 000 *p*. Активность ферментов исследовалась после достижения суммарной дозы 90 000 *p* (после 3-часового облучения). Авторы не обнаружили заметного изменения анаэробного и аэробного гликолиза в мозгу облученных животных.

Была исследована активность ряда ферментов в гомогенатах печени крыс, тотчас после их облучения в дозе 5 и 20 тыс. *p* [20]. Были получены данные, представленные в табл. 34.

Из приведенных данных следует, что многие ферменты, легко инактивируемые при облучении их разбавленных растворов *in vitro*, оказываются достаточно устойчивыми при облучении гомогената ткани, где они, по-видимому, достаточно надежно защищены присутствующими белками или другими соединениями. Такая устойчивость в первые часы после облучения делает мало вероятным предположение, что ионизирующее излучение непосредственно действует на ферменты, разрушая их молекулы.



Активность ферментов в гомогенатах печени после их облучения

Таблица 34

Фермент	Ферментативная активность гомогената	
	до облучения	тотчас после облучения
Облучение 5 000 p		
Фосфоглицеральдегид-дегидрогеназа . . . . .	$34,3 \times 10^{-3}$	$33,7 \times 10^{-3}$
Дегидрогеназа яблочной кислоты . . . . .	$331,9 \times 10^{-3}$	$336,9 \times 10^{-3}$
Дегидрогеназа глютаминовой кислоты . . . . .	$14,3 \times 10^{-3}$	$14,5 \times 10^{-3}$
Дегидрогеназа янтарной кислоты . . . . .	77,8	82,7
Сукциноксидаза . . . . .	693,0	680,2
Аденозинтрифосфатаза . . . . .	288,2	278,1
Глюкоза-6-фосфат дегидрогеназа . . . . .	$8,1 \times 10^{-3}$	$8,2 \times 10^{-3}$
Альдолаза . . . . .	$8,7 \times 10^{-3}$	$8,7 \times 10^{-3}$
Глицерофосфатдегидрогеназа . . . . .	$42,6 \times 10^{-3}$	$42,3 \times 10^{-3}$
Дегидрогеназа молочной кислоты . . . . .	$177,6 \times 10^{-3}$	$174,2 \times 10^{-3}$
Фосфоглицераткиназа . . . . .	$121,2 \times 10^{-3}$	$122,0 \times 10^{-3}$
Облучение 20 000 p		
Фосфоглицеральдегиддегидрогеназа . . . . .	$30,7 \times 10^{-3}$	$31,7 \times 10^{-3}$
Дегидрогеназа яблочной кислоты . . . . .	$232,5 \times 10^{-3}$	$245,0 \times 10^{-3}$
Альдолаза . . . . .	$9,9 \times 10^{-3}$	$10,0 \times 10^{-3}$
$\alpha$ -Глицерофосфатдегидрогеназа . . . . .	$57,0 \times 10^{-3}$	$52,3 \times 10^{-3}$
Дегидрогеназа молочной кислоты . . . . .	$188,7 \times 10^{-3}$	$197,5 \times 10^{-3}$
Фосфоглицераткиназа . . . . .	$93,7 \times 10^{-3}$	$96,3 \times 10^{-3}$

Действительно, обычно отмечалось, что снижение активности фермента в облученных тканях наступает спустя несколько часов после облучения. Это снижение часто прогрессировало во времени и всегда могло быть объяснено вторичными процессами, возникающими в облученном организме.

На вторичность этих процессов указывают многочисленные данные об устойчивости того или иного фермента при облучении его в очищенном виде и резкого изменения активности в естественных условиях. Так, например, при локальном облучении лапки крысы дозой 2000 p наблюдалось резкое падение активности щелочной фосфатазы [21], хотя при облучении растворов того же фермента, извлеченного из кости, гораздо большими дозами (до 10 000 p) изменения активности фермента не наблюдалось [22]. Это указывает на вторичный характер инактивации, наблюдаемой *in vivo*. Здесь происходит разрушение клеток, особенно остеобластов. Весьма вероятно, что образующиеся продукты распада тем или иным путем блокируют щелочную фосфатазу кости.

О вторичном характере изменений активности фермента свидетельствует также и постепенный, нарастающий во времени



ход этих изменений (их обнаруживают обычно через 10—24 часа после воздействия радиации).

Так, Вудорд [23], исследуя активность щелочной фосфатазы (расщепляющей  $\beta$ -глицерофосфат) костной ткани мышц при локальном облучении кости лапки, показал, что после облучения активность этого фермента закономерно падает, причем с увеличением дозы увеличивается и степень инактивации (рис. 59).

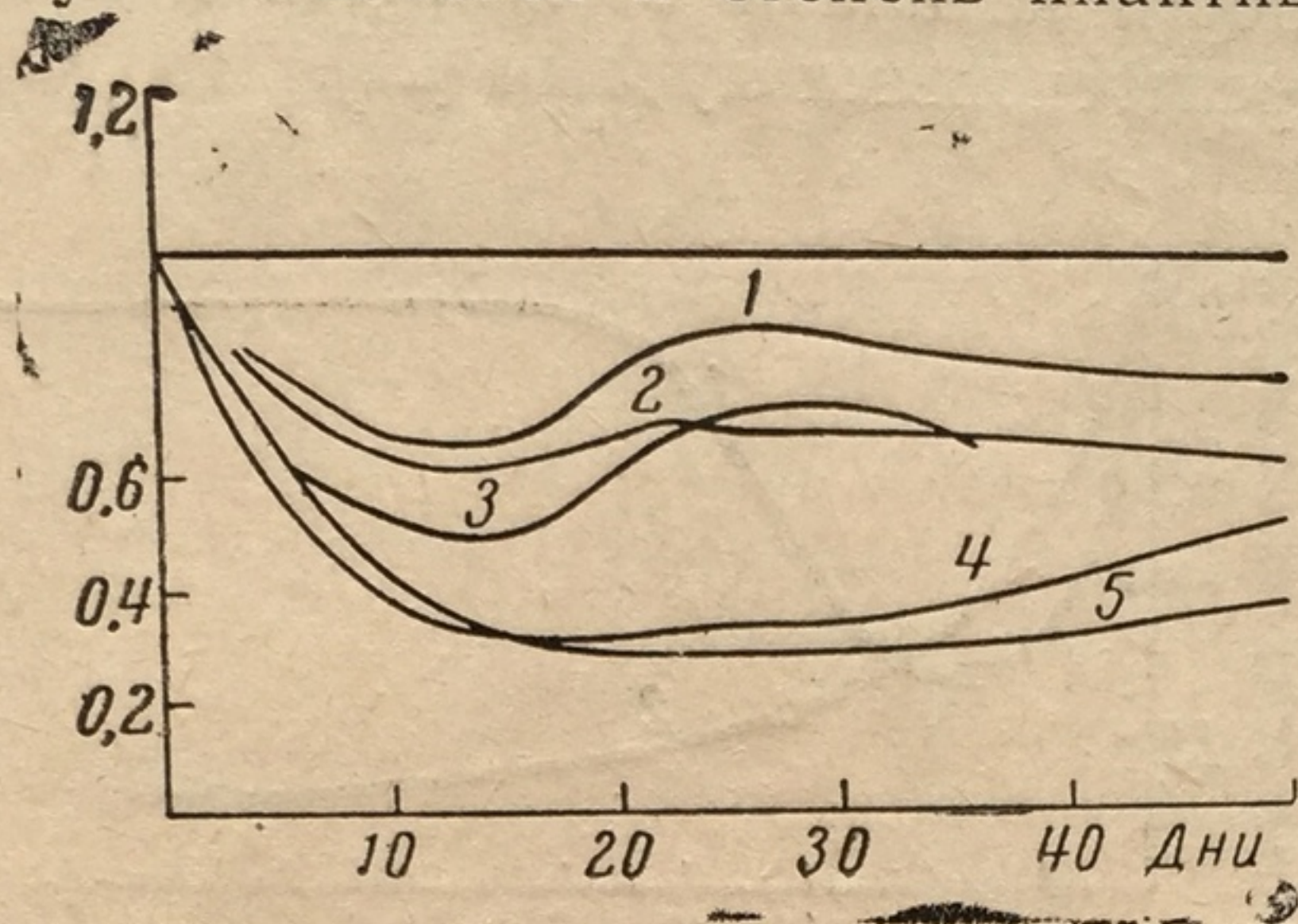


Рис. 59. Зависимость инактивации щелочной фосфатазы от дозы и времени после облучения. По оси ординат — отношение фосфатазы облученной кости к фосфатазе необлученной (контроль)

1 — доза облучения 900 p; 2 — 1200 p; 3 — 1500 p; 4 — 2000 p; 5 — 2500 p

Измеримое снижение активности удается уловить уже через 24 часа, а максимум угнетения наблюдается, в зависимости от дозы, через 12—25 дней.

Каталаза, как уже отмечалось выше, сравнительно устойчива к облучению.

При облучении культуры *Micrococcus pyogenes var. aureus* дозами, в два раза превышающими смертельную (700 000 p), Проектор, Кольмен и Гольдблит [24] наблюдали, что активность каталазы снижается только на 33%. Однако при хранении таких культур было отмечено, что при низких температурах (2°) активность каталазы мало изменялась, а при 25° с течением времени наблюдалась отчетливая инактивация, что опять-таки свидетельствовало о вторичном характере изменения активности этого фермента.

При облучении высших животных (крыс, мышей) отмечается постепенная инактивация каталазы печени уже при дозе 800 p (17 p в 1 мин.): через 2 мин. после облучения — на 9, через 24 часа — на 50, а через неделю — на 82%. Было высказано предположение, что активность каталазы угнетается перекисью водорода, которая появляется в момент облучения. Это было проверено Файнштейном, Бутлером и Хендлеем [25] путем вве-



дения контрольным животным 20 м-экв  $H_2O_2$  в виде 4%-ного раствора. Полученные данные приведены на рис. 60. Из рассмотрения кривых видно, что процесс инактивации фермента развивается не однозначно. Кроме того, при облучении такими дозами перекись водорода вообще не образуется и поэтому ее появлением нельзя объяснять механизм инактивации каталазы. Падение активности каталазы отмечалось и в листьях ячменя при облучении рентгеновыми лучами [26].

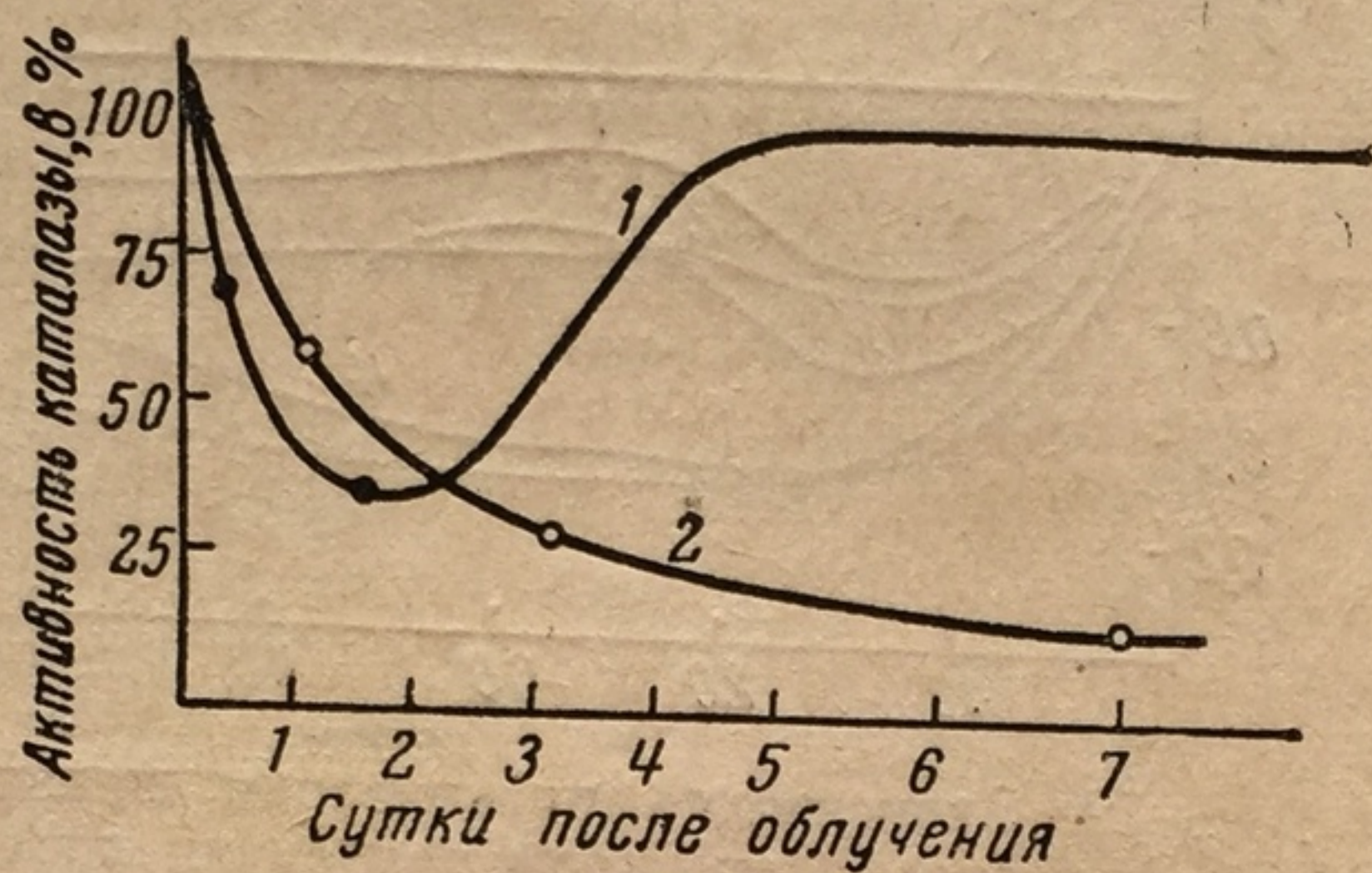


Рис. 60. Сравнение действия облучения и перекиси водорода на каталазу  
1 — добавка  $H_2O_2$ ; 2 — облучение дозой 800 p

На вторичный характер изменения активности ферментов указывают также многочисленные факты различной устойчивости одних и тех же систем ферментов, но находящихся в различных тканях, в различных организмах.

Нами уже отмечалась большая устойчивость дыхательных ферментов в дрожжевых клетках. При тотальном облучении цыплят дозой 300 p можно было наблюдать резкое снижение эндогенного дыхания костного мозга, в котором при этом также заметно понижалась активность сукциноксидазы, в то время как при облучении крыс дозой 800 p не удавалось обнаружить угнетения сукциноксидазы в печени и почках [1].

При действии рентгеновых лучей на срезы опухолей Холмс [27] наблюдала сильное подавление гликолиза. При этом способность к утилизации гексозофосфатов оставалась без изменения, что заставляло думать о нарушении активности гексокиназы. С другой стороны, при облучении в разбавленных водных растворах кристаллическая гексокиназа оказывается весьма устойчивой [28].

Приведенные факты, несомненно, свидетельствуют о неодинаковом поведении ферментов в живых тканях и в очищенных водных растворах. Вероятно, в живых тканях будет сохраняться и несколько большая поражаемость сульфгидрильных фермен-



тов, что, однако не позволяет выделять это явление как исходное, первоначальное звено в цепи дальнейших процессов.

Опыты Хикса [29] показали, что нейробласты весьма чувствительны к ядам, поражающим сульфгидрильные ферменты, а именно к *n*-хлормеркурибензоату, мафарсену, иodobензоату, триэтиленмеламину, азотному аналогу горчичного газа.

Эти клетки также чувствительны и к ионизирующим облучениям и погибают уже при дозе 40 *p*, что указывает на важную роль сульфгидрильных ферментов в механизме поражения.

Предположение, что окисление сульфгидрильных групп ферментов играет существенную роль в биологическом действии ионизирующей радиации, находит подтверждение в синергизме действия кортизона и общего облучения, который наблюдался многими авторами [30—31]. Наличие синергического действия при угнетении кортизоном активности сульфгидрильных ферментов указывает на их роль в биологическом действии радиации.

Желая доказать, что окисление сульфгидрильных ферментов малыми дозами ионизирующей радиации происходит и при тотальном облучении целого организма, Баррон, Волкович и Мюнтц [32] провели серию исследований по поглощению кислорода срезами различных тканей облученных животных в присутствии некоторых субстратов. В качестве субстратов использовались глюкоза, пировиноградная кислота, холин, янтарная кислота, аланин и глютамин. Исследовались ткани селезенки, печени, почки, тимуса, надпочечников, семенников. Интенсивность окислительных процессов определялась в аппарате Варбурга при 38° спустя 4, 24, 48, 72, 96 и 120 час. после облучения. Часть полученных данных представлена в табл. 35.

На основании этих данных авторы приходят к выводу, что ими обнаружено существенное угнетение некоторых окислительных систем, наблюдаемое почти сразу после облучения (4 часа) в так называемый латентный период и обнаруживаемое даже при облучении 400 *p*.

Однако если эти эксперименты и интересны, так как указывают на быстро наступающие, отчетливые сдвиги в течение окислительных процессов, но они вряд ли могут служить доказательством непосредственного поражения ферментов, обладающих сульфгидрильной группой. Опыты проведены со срезами тканей, где окисление идет в основном в митохондриях клеток, в которых происходят существенные изменения вскоре после облучения. Отмечаемое уменьшение окисления некоторых субстратов является отражением этих изменений.

Исследование активности каталазы в различных тканях облученных животных показало, что тотальное облучение рентгеновыми лучами уменьшало активность каталазы печени у мышей, крыс и морских свинок, но увеличивало ее у поросят [33].



Таблица 35

## Изменение активности ферментов различных органов после облучения

Доза, р	Время после облучения, часы	Селезенка, $\Delta Q_{O_2}$	Печень		Почка				
			$\Delta Q_{O_2}$ сукцинат	$\Delta Q_{O_2}$ пируват	$\Delta Q_{O_2}$ холин	$\Delta Q_{O_2}$ сукцинат	$\Delta Q_{O_2}$ пируват	$\Delta Q_{O_2}$ аланин	$\Delta Q_{O_2}$ глютамат
Контроль	—	12	13	11	6,2	28,6	7,4	9	10
400	4	8,3	13,9—7,5	9,9	1,9	11,4	4,6	5,0	5,6
	24	7,7	12,7—6,4	9,8	4,7	14,4	8,1	5,3	3,9
	48	7,7	11,1—10,6	9,0	1,6	13,0	0,9	3,6	3,3
	72	4,1	9,9—4,8	10,4	4,4	9,3	2,0	3,4	2,4
	96	5,5	7,9—6,6	9,7	1,2	12,4	5,9	6,3	4,2
	120	7,7	10,9—10,3	9,0	6,3	10,3	3,6	4,1	2,9
800	4		13,0	11,9	2,9	12,5	4,9	4,1	
	24		11,3	8,8	3,4	11,4	4,3	4,1	
	48		8,2	10,6	1,0	12,5	5,5	0	
	72		11,4	10,0	2,7	9,9	4,8	3,5	
	96		13,1	10,2	0,8	11,8	6,4	4,8	
	120		12,6	8,2					
1000	4			9,5	2,5	9,9	2,6	3,3	2,6
	24			9,8	3,8	14,1	1,8	5,1	3,8
	48			10,2	2,0	9,4	2,5	3,8	1,6
	72			8,7	2,1	9,8	6,0	3,9	2,6
	96			9,8	1,5	5,9	5,2	2,5	5,3
	120				5,2	13,9	7,1	2,9	2,3

Примечание.  $\Delta Q_{O_2}$  в  $мм^3/мг$  сухого веса за час в присутствии субстрата за вычетом  $мм^3 O_2/1 мг$  за час в отсутствие субстрата.

Активность каталазы печени у облученных крыс (1600 р) на 3-й день была на 30% меньше, чем в контроле, и держалась приблизительно на таком уровне до 12-го дня [7]. В то же время облучение крыс дозами 1000, 2000 и 3000 р увеличивало активность каталазы в мышцах на 1, 2 и 7-й дни после облучения [34] и приводило сначала к увеличению (через день), а затем к уменьшению (через три дня) в крови облученных животных [35].

Постепенная инактивация каталазы в печени во времени после облучения, неодинаковое изменение активности в различных органах уже указывало на вторичность этого явления. Кузин и Арутюнова [36] показали, что если мышам вводить кровь от облученных животных, то у них также падает активность каталазы в печени, что непосредственно доказывает вторичный характер этой инактивации. Эйхель и Рут [37], обсуждая проблему изменения ферментативной активности в облученном органе животного, правильно указывают, что при этом необходи-



мо учитывать как удельную активность (количество единиц ферментативной активности на 1 мг азота), так и общую активность (произведение удельной активности на общее количество миллиграмм азота в органе). Если удельная активность не изменяется, а падает только общая активность, то сделать вывод о разрушении самого фермента под влиянием радиации еще нельзя. Действительно, здесь должны быть приняты во внимание следующие возможности:

- 1) фермент разрушается под влиянием радиации;
- 2) фермент выходит из пораженных клеток;
- 3) фермент теряется вследствие смерти и лизиса ряда клеток;
- 4) фермент разрушается протеазами, освобождающимися под влиянием радиации;

5) фермент ингибируется образующимися или освобождающимися ингибиторами.

Только в том случае, когда одновременно падают удельная активность и общая активность, можно сделать вывод о том, что радиация действительно избирательно разрушила этот фермент или, что тоже возможно, избирательно повредила те клетки, которые особенно богаты этим ферментом. Эйхель и Рут сопоставили литературу об активности 16 ферментов в гомогенатах селезенки крыс и мышей после тотального облучения спустя различные сроки (25 вариантов) и нашли только один случай, когда наблюдалось одновременное отчетливое снижение и удельной и общей активности фермента. Это были данные, описанные Смитом и Лоу-Беер [38], о снижении активности фосфатазы уридилловой кислоты в селезенке крыс спустя 24 часа после тотального облучения дозой в 650 р. Интересно, что удельная активность фосфатазы цитидиловой и адениловой кислот при этом не уменьшалась.

При изучении влияния ионизирующих излучений на активность фосфатаз была отмечена инактивация щелочной фосфатазы в облученных тканях. Эта инактивация была обнаружена в двенадцатиперстной и тонких кишках через 30—60 мин. после облучения мышей (550 р) [39], через 24 часа — в мозгу и печени белых крыс (5000 р) [40] и спустя более длительные сроки (10 дней и более) в костной ткани при локальном облучении берцовой кости [41—43]. Было показано, что падение активности щелочной фосфатазы пропорционально энергии излучения, поглощенной костной тканью [41, 42]. При локальном облучении лапки крысы отмечалось также падение активности щелочной фосфатазы сыворотки крови [44]. Гистохимические исследования щелочной фосфатазы в различных органах крыс через 6, 12, 24 часа после тотального облучения дозами в 300, 1000 и 3000 р не обнаружили изменений в тканях головного мозга, поджелудочной железы, почках и семенниках и определили увеличение активности в селезенке, вилочковой железе и двенадцатиперст-



ной кишке [45]. Этих изменений не происходило при облучении только головы животного дозой в 4500 p [46]. Исследование фосфатазы, отщепляющей неорганический фосфат от фосфопро-теина без предварительного протеолиза, было проведено при то-тальном облучении (750 p) крыс [47]. Исследовалась активность этого фермента в печени, почках, кишечнике, селезенке и семен-никах. Радиация влияла только на активность фосфатазы фос-фопротеинов селезенки и кишечника. В каждом из этих случаев общая активность фермента всей ткани уменьшалась (селезенка на 21, кишечник на 33%), а активность фермента на 1 мг белка увеличивалась (селезенка на 83, кишечник на 50%).

Большая радиочувствительность ферментных систем, ката-лизирующих превращение триптофана в ауксин, в зеленых листьях растений была показана в серии работ Вебера и Гор-дона [48]. Авторы показали, что малые дозы облучения (50—100 p) уменьшали содержание ауксина в молодых растениях фасоли, а при инфильтрации триптофана в облученных листьях ауксина образуется меньше, чем в необлученных; экстракты из облученных листьев образуют *in vitro* меньше ауксина из трип-тофана, чем необлученные.

Характер этих изменений может быть иллюстрирован кри-выми, представленными на рис. 61 и 62, взятых из обобщающей работы Гордона [49].

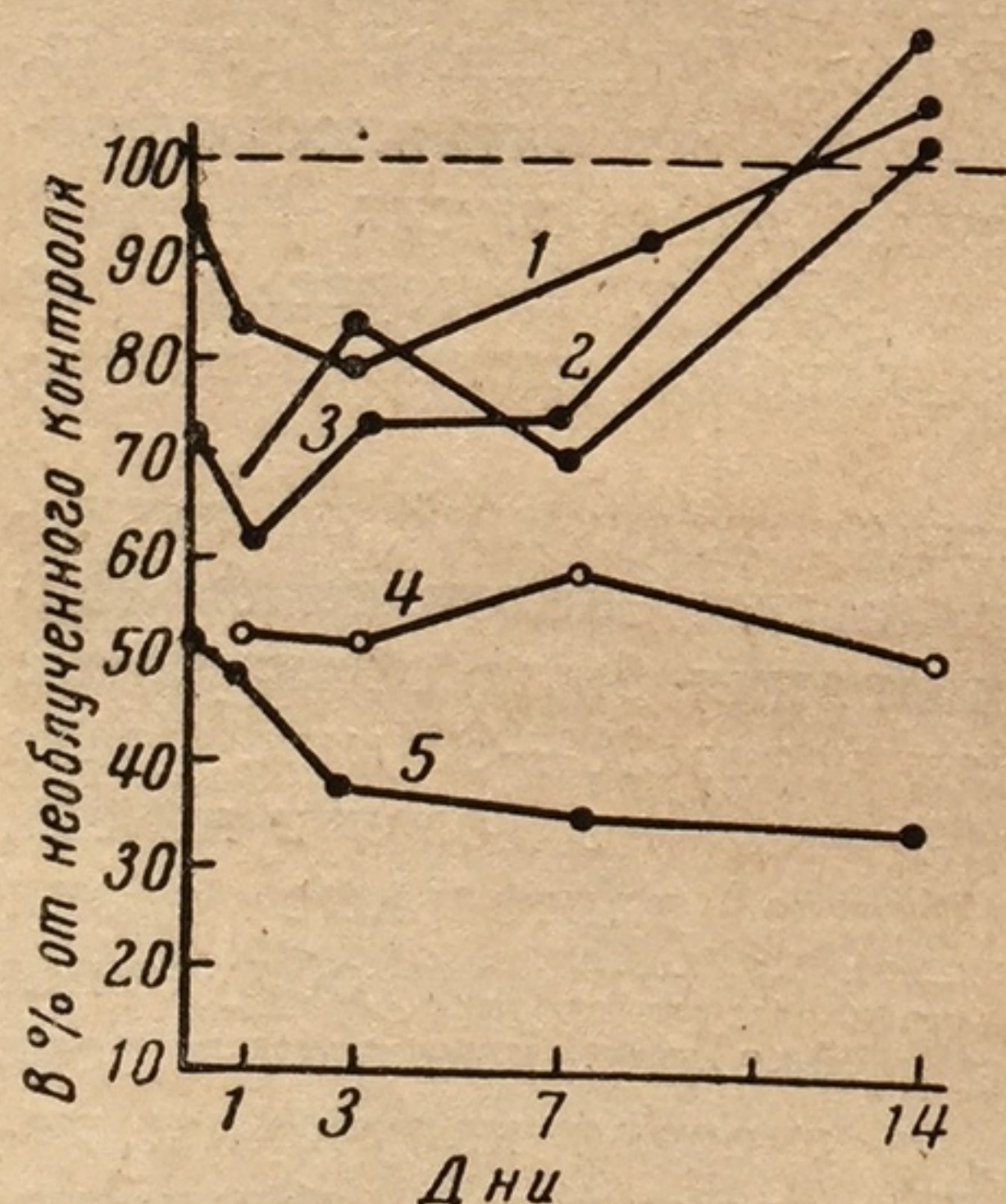


Рис. 61. Относительный уровень свободного ауксина в растениях фасоли после облучения рентгеновыми лучами

1 — облучение дозой 25 p; 2 — 100 p; 3 — 1000 p; 4 — 5000 p; 5 — 10 000 p; прерывистая линия — необлученный контроль

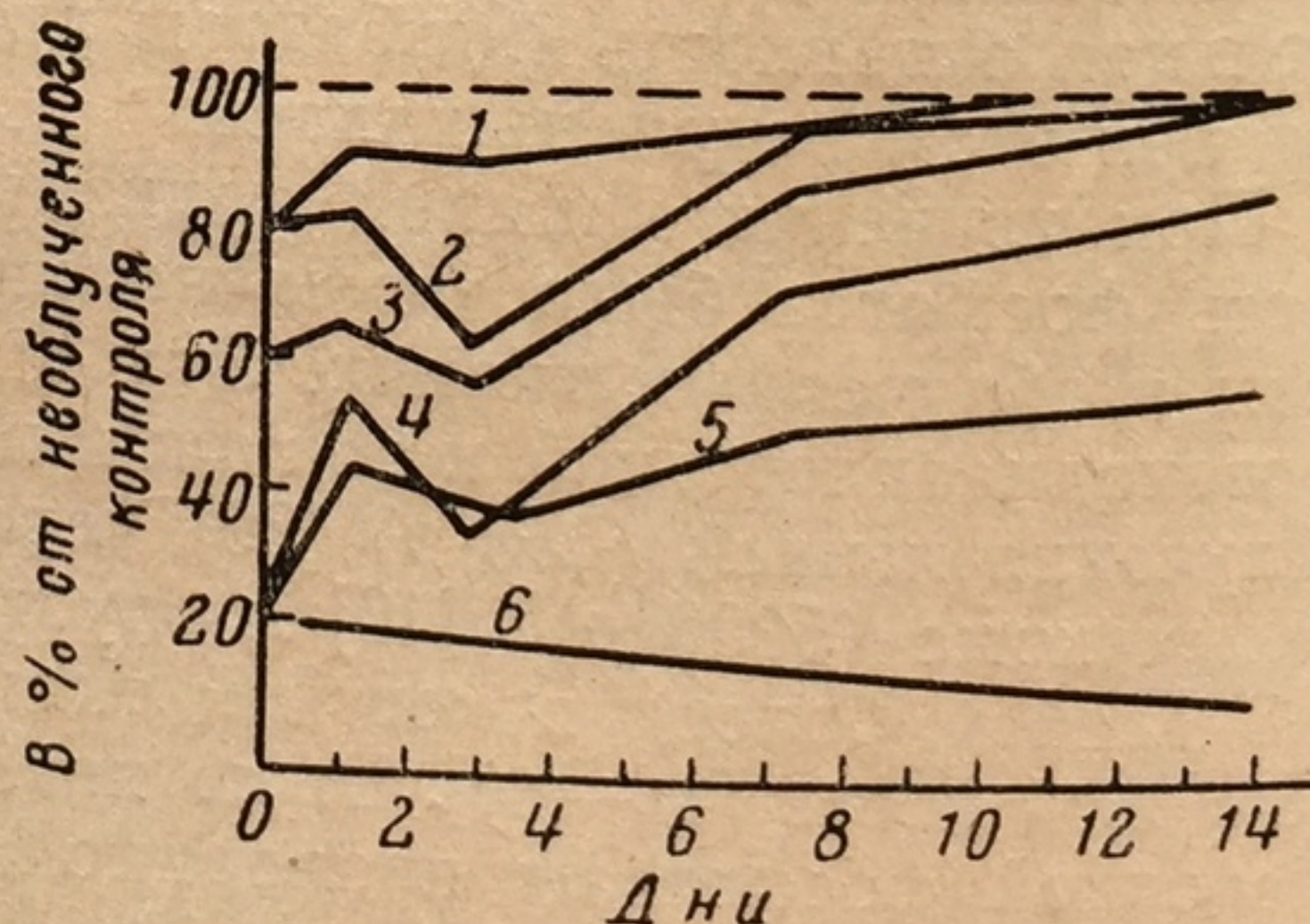


Рис. 62. Превращение инфильтрированного триптофана в ауксин в бобовых проростках в различное время после облучения

1 — облучение дозой 25 p; 2 — 50 p; 3 — 100 p; 4 — 1000 p; 5 — 2000 p; 6 — 5000 p; прерывистая линия — необлученный контроль



Гордон предполагает, что под влиянием облучения тормозится ферментативный процесс перехода индолацетальдегида в индолуксусную кислоту. Не описывая методов работы, автор утверждает, что в облученных листьях бобовых накапливается индолацетальдегид. Пири [50], высказывая сомнения в методической части исследований с индолацетальдегидом, приходит к выводу, что еще не ясно, какой именно ферментативный процесс угнетается, но несомненным является факт подавления образования ауксина из триптофана в облученных листьях.

Гордон показал, что подавляемая ферментативная система находится в надосадочной жидкости, остающейся после удаления из гомогенатов ядер, пластид, митохондрий и микросом [51].

Исключительно большой интерес представляют исследования ферментативной активности отдельных органоидов клетки, так как наблюдаемые изменения активности могут быть непосредственно связаны с физико-химическим нарушением их субмикроскопической структуры. Наблюдения фундаментальной важности были сделаны по влиянию ионизирующей радиации на окислительное фосфорилирование в митохондриях клеток. Поттер и Бетелл [52], а затем Эшуэлл и Хикман [8, 53] показали, что митохондрии, изолированные из селезенки крыс час спустя после облучения животных дозой в 800 *p*, значительно хуже связывают неорганический фосфор за счет идущих окислительных процессов. Отношение Р/О оказывалось значительно ниже у облученных митохондрий, по сравнению с нормальными. Снижение окислительного фосфорилирования под влиянием облучения было показано также на гомогенатах тимуса [54] и печени [55].

Ван Беккум детально исследовал это явление и показал [50], что снижение окислительного фосфорилирования в митохондриях можно наблюдать через 4 часа после облучения уже при малых дозах: 100 *p* для селезенки и 50 *p* для тимуса.

Облучая крыс дозой в 1100 *p*, Ван Беккум получал следующие данные (табл. 36).

Таблица 36

Окислительное фосфорилирование в митохондриях селезенки крысы через 4 часа после облучения (1100 *p*) (субстрат — сукцинат 0,01 М)

	Потребление фосфата, $\mu\text{ммоли/мг N}$	Потребление кислорода, $\mu\text{кг атомы/мг N}$	Р/О
Контрольные животные . . . . .	$32,7 \pm 7,0$	$28,9 \pm 3,8$	$1,14 \pm 0,19$
Облученные животные . . . . .	$17,1 \pm 5,0$	$22,8 \pm 4,8$	$0,82 \pm 0,23$

При дозе в 700 *p* через 15, 30 мин. и 1 час не удалось обнаружить отчетливого изменения окислительного фосфорилирования. В пробе, взятой через 2 часа, потребление фосфора было значительно ниже.



Ван Беккум не обнаружил падения окислительного фосфорилирования в митохондриях печени и в ряде трансплантируемых опухолей.

Большой интерес представляет то обстоятельство, что облучение изолированных митохондрий даже при больших дозах (до 20 000 p) не вызывает снижения окислительного фосфорилирования, как это показали Поттер и Бэтель [52], Орд и Стоккен [56] и как это было подтверждено Ван Беккум [50]. По-видимому, на свойства митохондрий влияют какие-то метаболиты облученных цитоплазмы или ядра клетки. Можно также предполагать, что изменения свойств митохондрий под влиянием облучения идут неодинаково в присутствии белков цитоплазмы или без них, когда митохондрии облучаются в растворе сахарозы. Возможно, свойства поверхностной мембраны митохондрий нарушались под влиянием радиации различно в присутствии и в отсутствие белков цитоплазмы. Такое влияние растворенных белков на прочность клеточной поверхности при облучении было показано Кузиным и Тринчер на других объектах [57].

Об изменении проницаемости митохондриальных мембран под влиянием облучения можно было судить по потере ими цитохрома *c*, как это следовало из наблюдений Моксуэл и Эшуел [58], показавших, что добавление цитохрома *c* к облученным митохондриям значительно повышает потребление кислорода и фосфора.

Ван Беккум приводит следующие данные для характеристики цитохромного эффекта (табл. 37).

Таблица 37

Влияние общего облучения животного (700 p) на цитохромный эффект в митохондриях селезенки

Время после облучения, часы	Стимуляция цитохромом <i>c</i> , %			
	потребление фосфора		потребление кислорода	
	контроль	облученные животные	контроль	облученные животные
0,5	65	77	82	95
1	63	86	66	91
2	90	180	92	165
4	82	362	84	172

Мы видим, что в то время как добавление цитохрома *c* к контрольным митохондриям повышает эффект на 60—80%, у облученных животных это повышение через 2 часа достигает 160—180%, а через 4 часа, когда окислительное фосфорилирование уже сильно угнетено, цитохромный эффект достигает для потребления фосфора 360%, почти вдвое более чем для потребления кислорода (172%). Таким образом, угнетение окислительного



фосфорилирования, по-видимому, тесно связано с потерей митохондриями цитохрома с и, вероятно, зависит от изменения проницаемости митохондриальных мембран.

Зависимость окислительного фосфорилирования митохондрий от состава окружающей среды и возможность изменения активности процесса добавлением высокополимерных нуклеиновых кислот была показана Кузиным и Будиловой [59]. Работая с гомогенатом печени облученных и необлученных крыс, они наблюдали заметное угнетение связывания неорганического фосфата в гомогенатах облученных животных (через 24 часа после облучения 1000 *p*).

Добавление высокополимерной, нативной ДНК повышало связывание фосфора. Интересно, что добавление облученной ДНК, потерявшей структурную вязкость, не оказывало аналогичного влияния.

Фритц-Ниггли [60, 61] показала, что состав внешней среды существенно изменяет радиочувствительность клеточных оргanelл. Автор повышал радиочувствительность митохондрий печени, помещая их в растворы маннита различной концентрации. После этого облучение дозой в 50 *p* приводило к 30%-ному подавлению окисления пировиноградной кислоты. При инкубации митохондрий в очень разбавленных растворах манита автору удавалось наблюдать снижение потребления кислорода на 60% уже после облучения дозами в 0,1 *p*. Как справедливо отмечает Стокен [62], здесь радиация наносила конечный удар уже сильно поврежденной системе.

Как показали Криси и Стокен [63], ядра клеток радиочувствительных тканей: тимуса, селезенки, лимфатических узлов, костного мозга и слизистой кишечника показывали отчетливое окислительное фосфорилирование после их изоляции из тканей, в то время как в ядрах клеток печени, почек, мозга и поджелудочной железы оно не было обнаружено.

Стокен сообщает [62], что тотальное облучение животных даже дозой в 100 *p* полностью прекращает фосфорилирование в ядрах клеток селезенки, тимуса, костного мозга и лимфатических узлов через час после облучения. Даже если тимус удалялся у облученного животного спустя 2—6 мин. после облучения (100 *p*), помещался в охлажденный солевой раствор и через 45 мин. изолировались ядра, в них не удавалось обнаружить фосфорилирования. После облучения 100 *p* возвращение к норме наблюдалось через 60 час., а при дозе в 1000 *p* восстановление отсутствовало. Интересно, что подавление окислительного фосфорилирования в митохондриях было показано Калачевой [64] на растениях только при облучении в больших дозах (10 000 *p*).

Угнетение окислительного фосфорилирования у микроорганизмов (дрожжи) было показано Мейселем [3], начиная с доз в 20 000—30 000 *p*.



Таким образом, мы видим, что окислительное фосфорилирование в митохондриях и, особенно, в ядрах является одним из радиочувствительных ферментативных процессов в живой клетке и его угнетение может явиться важным фактором в развитии лучевого поражения.

В ядрах облученных клеток резко угнетается и другой ферментативный процесс — синтез ДНК. Имеются данные о нарушении под влиянием облучения активности ферментов, обуславливающих фосфорилирование тимидина [65—67], уменьшение тимин-катаболизирующих энзимов [68, 69] и падение активности трифосфонуклеотид полимеразы [70]. Все эти ферменты непосредственно участвуют в синтезе ДНК. Однако угнетение синтеза ДНК может быть обусловлено не только угнетением активности отдельных ферментов, и мы вернемся к этому вопросу ниже.

Еще следует отметить падение каталазной активности в ядрах клеток тимуса [62] спустя час после облучения крыс дозами в 50, 200 и 1000 *p*.

Как показали дальнейшие исследования Криса [71], содержание каталазы в ядрах клеток резко отличается в различных тканях, причем имеется некоторая корреляция между радиочувствительностью ткани и содержанием каталазы в ядре, как это видно из следующих данных:

Ткань, из которой получены клеточные ядра	Активность каталазы в $\mu\text{M}$ $\text{H}_2\text{O}_2$ , разлагаемой в мин/мг ДНК
Печень голубя . . . . .	3380
Печень крысы . . . . .	2320
Почка крысы . . . . .	2920
Мозг крысы . . . . .	590
Селезенка крысы . . . . .	106
Тимус крысы . . . . .	16
Лимфатические узлы крысы . . . . .	37

При облучении целого организма активность каталазы в ядрах тимуса резко падала на 50% уже при дозе в 200 *p*, в то время как в печени даже при 1000 *p* падение не превышало 20%.

Из всего сказанного видно, что в ядрах и митохондриях клеток под влиянием даже небольших доз радиации наблюдаются существенные сдвиги в течении ферментативных процессов. Эти сдвиги легко могут быть объяснены изменением проницаемости мембран и выходом из этих органелл ферментов или их кофакторов. Вероятно, здесь имеет место и разобщение ранее тесно сопряженных ферментов вследствие структурных изменений в рассматриваемых органеллах. На вторичный характер приведенных выше изменений ферментативной активности указывает прежде всего различное течение процесса в различных тканях. зависимость его от состава среды, окружающей органеллу.

О вторичном  
облучении свиде  
вышении активн  
туть, что под в  
вация аденозинт  
и 5-нуклеотидаз  
нашел следую  
личение активн  
чения, затем о  
также данные  
ной железы.

Действ  
алено

Доза, *p*

25  
50  
100

Наблюдени  
ном облучении  
зультаты.

Сукциндегид  
активности пр  
 $\beta$ -глицероф  
свою активнос  
ментов выраж  
N в час:

АТФ-аз  
5-нукле  
 $\beta$ -глице

Повышени  
селезенки, но  
и Эшуел [58]  
активности о  
облучения ж  
Полученн  
После об  
далось во вс  
ду фракция  
С другой  
зали, что пр  
10 А. М. Кузин



О вторичном характере изменения активности ферментов при облучении свидетельствуют также многочисленные данные о повышении активности ферментов после облучения. Нужно отметить, что под влиянием облучения наблюдается заметная активация аденозинтрифосфатазы. Так, измеряя активность АТФ-азы и 5-нуклеотидазы в селезенке крысы после облучения, Дейл [72] нашел следующую зависимость (табл. 38). Максимальное увеличение активности наблюдалось через 48—72 часа после облучения, затем она медленно возвращалась к норме. Имеются также данные и о повышении активности 5-нуклеотидазы зубной железы.

Таблица 38

Действие тотального облучения крысы на активность аденозинтрифосфатазы и 5-нуклеотидазы селезенки

Доза, р	Повышение активности АТФ-азы (через 24 часа), %	Повышение активности 5-нуклеотидазы (через 72 часа), %
25	29	—
50	56	32
100	88	51

Наблюдения за активностью ферментов селезенки при тотальном облучении мышей дозами 640 р (ЛД<sub>90</sub>) дали следующие результаты.

Сукциндегидрогеназа и цитохромоксидаза не изменяют своей активности при расчете на сухой вес ткани.

β-глицерофосфатаза, 5-нуклеотидаза и АТФ-аза увеличивают свою активность (средние данные из 8 опытов); активность ферментов выражается в миллиграммах освобожденного Р на 1 мг N в час:

	Контрольные	Облученные
АТФ-аза . . . . .	2068±89	7120±455
5-нуклеотидаза . . . . .	106±3,6	201±30
β-глицерофосфатаза . . . . .	26,3±1,4	54,1±3

Повышение активности специфично не только для АТФ-азы селезенки, но оно наблюдается и в других тканях [53]. Максвелл и Эшуел [58] провели более тщательное исследование АТФ-азной активности отдельных клеточных компонентов после тотального облучения животного.

Полученные ими данные приведены в табл. 39.

После облучения возрастание АТФ-азной активности наблюдалось во всех фракциях, причем распределение активности между фракциями практически не менялось.

С другой стороны, гистохимические исследования [73] показали, что при рентгеновском облучении, когда полностью затор-



можен синтез ДНК в ядре, а синтез РНК в ядрышке еще идет, можно наблюдать значительное уменьшение АТФ-азы в ядре при сохранении ее активности в ядрышке.

Таблица 39

Активность аденозинтрифосфатазы отдельных фракций  
гомогената селезенки

Исследуемая фракция	Контроль (необлученные животные)	1—2 дня после облучения 640 p
Весь гомогенат . . . . .	120	347
Митохондрий . . . . .	16,6	54
Ядра . . . . .	18	40
Микросомы . . . . .	50	160
Надосадочная жидкость . . . . .	9,5	22

В пределах доз от 25—400 p увеличение АТФ-азной активности селезенки и тимуса крыс было прямо пропорционально дозе облучения [74]; дозы свыше 400 p не вызывали дополнительного увеличения активности АТФ-азы тканей. Активность АТФ-азы возвращалась к первоначальным значениям через две недели после облучения дозами от 50 до 200 p [75].

О вторичном характере наблюдаемого повышения активности АТФ-азы можно судить по опытам Петерсона и других [76] и Орд и Стокена [77], показавших, что облучение изолированной селезенки, ее гомогенатов, изолированных митохондрий не приводит к повышению активности АТФ-азы даже при дозах 800—1000 p. В этой связи интересны опыты Прокудиной [78], показавшие увеличение АТФ-азной активности селезенки при облучении головы крысы дозой в 4500 p. Это повышение наблюдалось лишь при сохранении иннервации селезенки и наличии надпочечников. У адреналэктомированных животных подъема АТФ-азной активности не наблюдалось. Однако это нейрогуморальное влияние проявлялось лишь при больших дозах облучения. Облучение головы дозой в 1500 p не приводило к повышению АТФ-азной активности в селезенке [79]. Следовательно, при минимальных смертельных дозах облучения мы, по-видимому, имеем дело как с непосредственным воздействием радиации на метаболизирующий орган, так и с влиянием гуморальных факторов.

Повышение активности фермента под влиянием облучения, несомненно, тесно связано с изменением проницаемости клеточных мембран или изменением сорбируемости фермента. Яркой иллюстрацией сказанного служат опыты Паули и Раевского с декарбоксилазой аргинина у *E. coli* [80]. Как видно из рис. 63, представляющего результаты этих опытов, при определении ферментативной активности облученных клеток *E. coli* наблюдалась почти 100%-ная активация фермента (кривая А) вследствие уве-



личения проницаемости и более легкого выхода фермента из клетки. Если же определять активность фермента, разрушая клетки (замораживанием и оттаиванием), то наблюдается его инактивация (кривая Б).

Большой интерес представляют исследования, показавшие значительную активацию дезоксирибонуклеаз в облученном организме.

Как известно, имеется две дезоксирибонуклеазы: ДНК-аза I с рН оптимум 7,5 и ДНК-аза II с рН оптимум 5,6. Оба фермента встречаются в моче человека, собак и крыс и могут быть выделены соответствующим методом [81]. При облучении белых крыс (700 р) в их моче определяли активность обоих ферментов сразу после облучения и через 3, 5, 9 и 13 дней, и было показано [82], что сразу после облучения активность обеих нуклеаз (нейтральной и кислой) увеличивается [83].

Как известно, ДНК-аза II присутствует в ядрах и митохондриях большинства тканей, а ДНК-аза I найдена в печени, почках, селезенке, легких и плаценте. Увеличение активности кислой ДНК-азы через час после облучения, по-видимому, является результатом разрушения высокочувствительных клеток [83]. Действительно, было показано [84], что активность кислой ДНК-азы (рН 5) селезенки крыс сильно увеличивается после тотального облучения (500 р), причем максимум наблюдался через

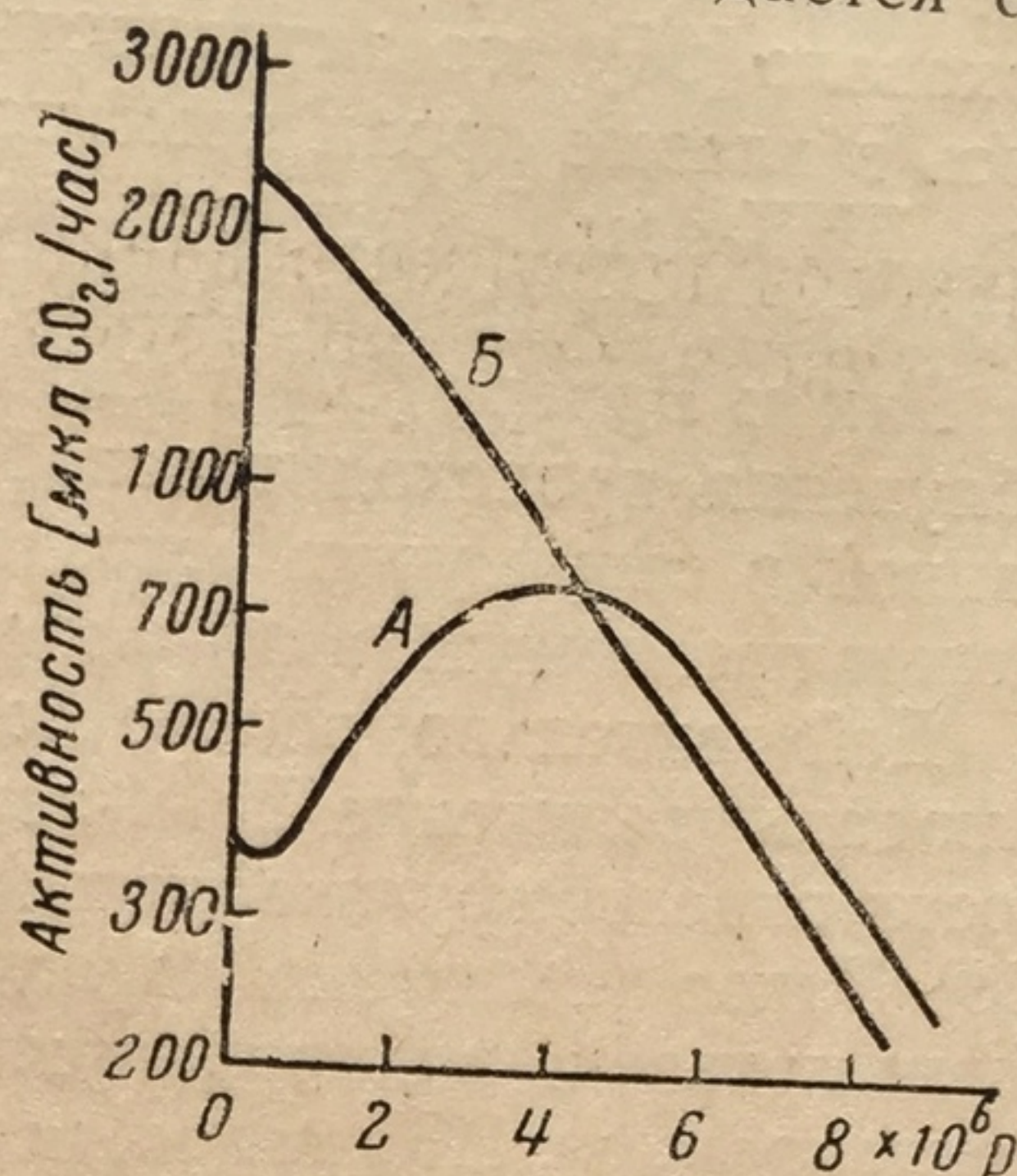


Рис. 63. Изменение активности декарбоксилазы аргинина у *E. coli* после облучения при различных методах определения

А — активность клеточной суспензии *E. coli* в воде; Б — активность после полной экстракции фермента

Время после облучения 700 р	Активность, в мкг дезоксирибонуклеазы	
	ДНК-аза I	ДНК-аза II
0	6,7	6,2
18 час	13,7	33,0
3 дня	22,4	16,2
5 дней	39,5	11,4
9 »	38,7	6,5
13 »	13,2	6,4

24—48 час. после облучения. В печени этого обнаружить не удалось. Увеличение активности кислой ДНК-азы селезенки наблюдалось уже после тотального облучения дозой в 100 р. Нейтральная ДНК-аза (рН 7,4) печени и селезенки не активировалась, а по другим данным [85] даже угнеталась через 6, 12, 24 и 48 час. после облучения. Клеточная деструкция радиочувствительных



тканей приводит и к увеличению активности ДНК-аз в крови облученных животных. Так, исследование активности ДНК-аз I и II плазмы крови облученных (700 p) и необлученных крыс показало [86], что активность ДНК-аз I и II заметно увеличивалась в плазме крови крыс после облучения. Максимум активности ДНК-азы I наступал через шесть дней, а ДНК-азы II — через день после облучения (см. стр. 147).

Бак и Эррера [87] высказали предположение, что в процессе облучения происходит освобождение ДНК-азы, ранее фиксированной в структурах митохондрий. Освободившаяся ДНК-аза может проникнуть в ядро и осуществить деполимеризацию ДНК.

Действительно, вскоре после облучения (30 мин.) можно наблюдать увеличение ДНК-азной активности в надосадочной жидкости отцентрифугованных клеточных препаратов ряда тканей [88]. Такое изменение локализации фермента после облучения было показано и на рибонуклеазах. По данным Рот и Эйхель [89], локализация РНК-азы менялась в клетках селезенки крыс после облучения дозами в 700 p следующим образом:

Время после облучения	Ядра	Митохондрии	Микросомы	Надосадочная жидкость
Контроль . . . . .	16,4	36,7	20,5	28,2
Через 16 час . . . . .	8,7	29,3	17,6	44,8
Через 64 часа после облучения . .	4,8	15,0	14,1	66,1

Из приведенных цифр ясно видно, как падает содержание РНК-азы в органоидах клеток и увеличивается в гиалоплазме. В этих экспериментах через 16 час. удельная активность повышалась почти в два раза.

Однако интерпретация этих данных затруднялась тем, что в исследуемых тканях не все клетки одинаково радиочувствительны, и исследователь спустя 24 часа после облучения имеет дело с иной клеточной популяцией, чем в контроле. Как уже отмечалось выше, если учитывать общее количество фермента на весь орган, то количество ДНК-азы II оставалось постоянным в селезенке [12—14] и тимусе [14] крыс в первые 24 часа после тотального облучения дозой в 750 p. В последующие дни наблюдалось падение как специфической активности ДНК-азы (т. е. ее активности на 1 мг ткани), так и общей активности на весь орган, как это видно из данных Гордон, Гасснер, Окада и Хемпельмана [90], представленных на рис. 64.

Быстрое возрастание удельной активности ДНК-азы в первые часы и достижение максимума к 24 час. после облучения совпадает с быстрым распадом лимфоцитов в облученной ткани. Это дало повод предположить, что наблюдаемое увеличение удельной активности является мнимым и обусловлено тем, что остающиеся



ся радиоустойчивые ретикулярные клетки более богаты ДНК-азой, чем быстро распадающиеся радиочувствительные лимфоциты [90]. Гистохимическое исследование распределения ДНК-

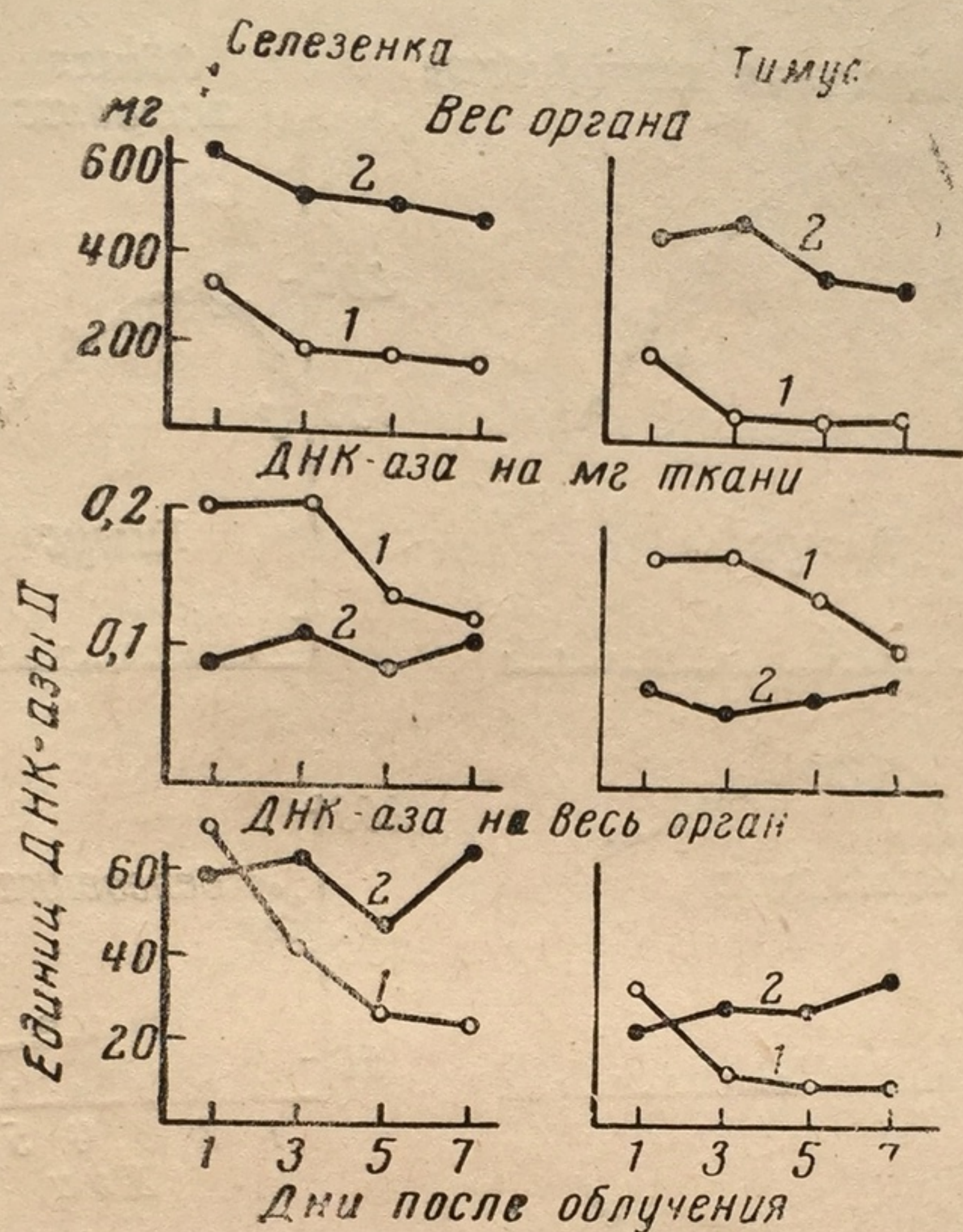


Рис. 64. Изменение веса органа и активности ДНК-азы в первые 7 дней после облучения крыс дозой 756 р (средние данные по 5 животным)

1 — облученные; 2 — необлученные

азы как бы подтверждало эту точку зрения; так, было найдено, что радиоустойчивые ретикулярные клетки и макрофаги более богаты ДНК-азой, чем радиочувствительные лимфоциты [91]. Правда, чисто качественный характер гистохимических наблюдений не давал полного ответа на поставленный вопрос. Либинзон, исследуя деполимеразы нуклеиновых кислот в костном мозгу кролика [92], также наблюдала значительную активацию ДНК-аз. Интересно отметить, что через 4 часа после облучения дозой в 1000 р активность ДНК-аз I (рН 7,0) заметно возрастала (182% контроля), в то время как активность ДНК-аз II (рН 5,0) почти не менялась. Через 12 час. активность ДНК-азы I составляла 226% по отношению к контролю, а ДНК-азы II — 157%, а через 24 часа ДНК-азы I — 194%, ДНК-азы II — 189%. Нам кажется, что различный характер активации двух ДНК-аз не согласуется с предположением о том, что эти изменения всецело связаны с



изменением клеточной популяции. Еще более неравномерная активация наблюдалась при сравнении ДНК-азы II с РНК-азой. Через 10 мин. после облучения, когда ДНК-азы I и II еще не об-

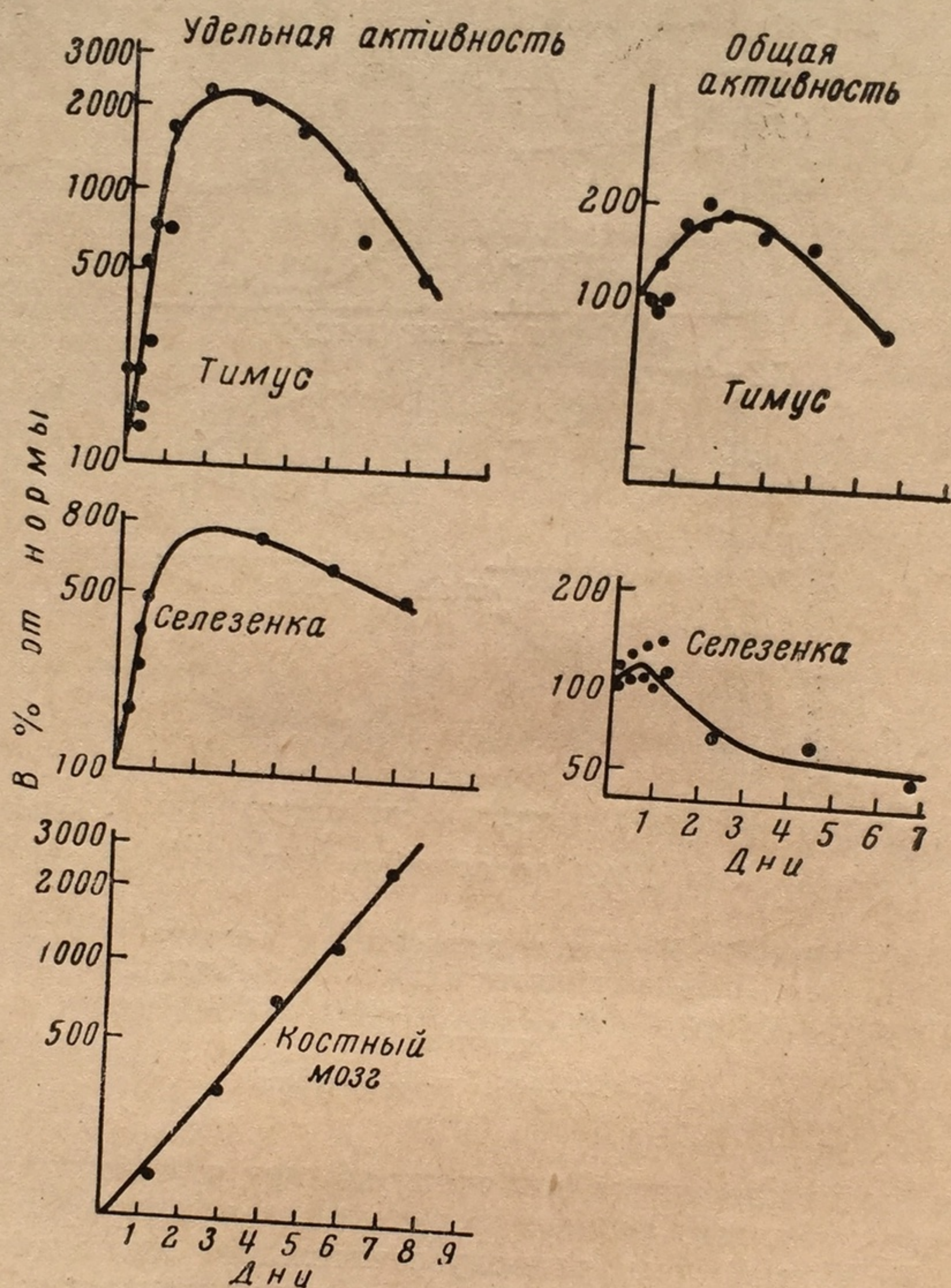


Рис. 65. Активность кислой ДНК-азы различных органов мыши после облучения дозой 780 р

наруживают отчетливого изменения, Либинзон наблюдала почти пятикратную активацию РНК-азы [92]. К этому времени в ткани наблюдаются только единичные распады клеток, как это было показано Мейселем и Сондак [93] флюоресцентным методом. Наиболее обстоятельное исследование активации ДНК-аз в тимусе, селезенке и костном мозгу при тотальном облучении было проведено Корник, Месси и Сандин [15]. Ими были получены кривые удельной и общей активности кислой ДНК-азы (рис. 65).



Следует отметить, что, по данным тех же авторов, вес органа за первые 24 часа падает в 2—3 раза, в то время как удельная активность возрастает более чем в 5 раз, что не позволяет объяснить это только изменением популяции клеток. Из рассмотрения кривых видно, что общая активность на весь орган возрастает в тимусе почти в 2 раза, в селезенке на 20—30%. Следует принять во внимание, что отчетливое увеличение содержания ДНК-аз в крови и моче [82, 83], вероятнее всего, происходит за счет распавшихся клеток. Отсюда даже постоянство активности ДНК-аз на весь орган может быть только при увеличении активности ДНК-аз в оставшихся клетках.

К такому же выводу приходит и Веймут [94], тщательно исследовавший активацию нуклеаз в тимусе. При дозе в 160 *p* он наблюдал, что ДНК-аза и РНК-аза 8 были соответственно в 6 и 10 раз более активны при расчете на клетку (по ДНК). РНК-аза 6 увеличивала свою активность только в 2 раза. Сравнивая облучение с действием гидрокортизона, который изменяет популяции клеток аналогично облучению (160 *p*), автор обнаружил, что ДНК-аза и РНК-аза 8 повышали свою активность только в 3 раза, а РНК-аза 6 в 1,5. Все это не позволяет объяснить весь эффект активации только изменением клеточной популяции.

Каковы же механизмы активации ферментов? Так как активация не наблюдалась при облучении гомогенатов, а также в селезенке, немедленно извлеченной после облучения и сохранявшейся 24 часа при 0° [15], то, очевидно, имеется непосредственная связь между наблюдаемой активацией и процессами обмена в облученном органе.

Десорбция фермента с клеточных органелл в гиалоплазму, как это отмечалось выше, играет существенную роль в измененном обмене веществ клетки [95], но не может объяснить общего повышения активности, обнаруживаемого и при полном разрушении органелл.

Вероятно, имеет место и снижение концентрации ингибиторов этих ферментов или за счет нарушения их синтеза, или за счет изменения проницаемости клетки и удаления ингибитора из ткани.

Быстрое падение концентрации ингибитора щелочной ДНК-азы в селезенке облученного животного было показано экспериментально [15]. Некоторое увеличение активности ферментов может быть объяснено по принципу синтеза адаптивных ферментов вследствие усиленного уничтожения макрофагами гибнущих клеток.

Увеличение активности ферментов было показано и при облучении гораздо более радиостойчивой ткани растений.

Сисакян с сотрудниками [96] показал резкую активацию инвертазы в изолированных хлоропластах при облучении их дозой



в 5000 p. Интересно, что активность фосфорилазы при этом, в тех же хлоропластах, значительно снижалась, а фосфоглюкомутазы увеличивалась, но в меньшей степени, чем инвертазы.

В работах Будницкой [97] было показано, что вскоре после облучения растений фасоли, сои, гороха в клетках листа отчетливо возрастает активность липооксидаз.

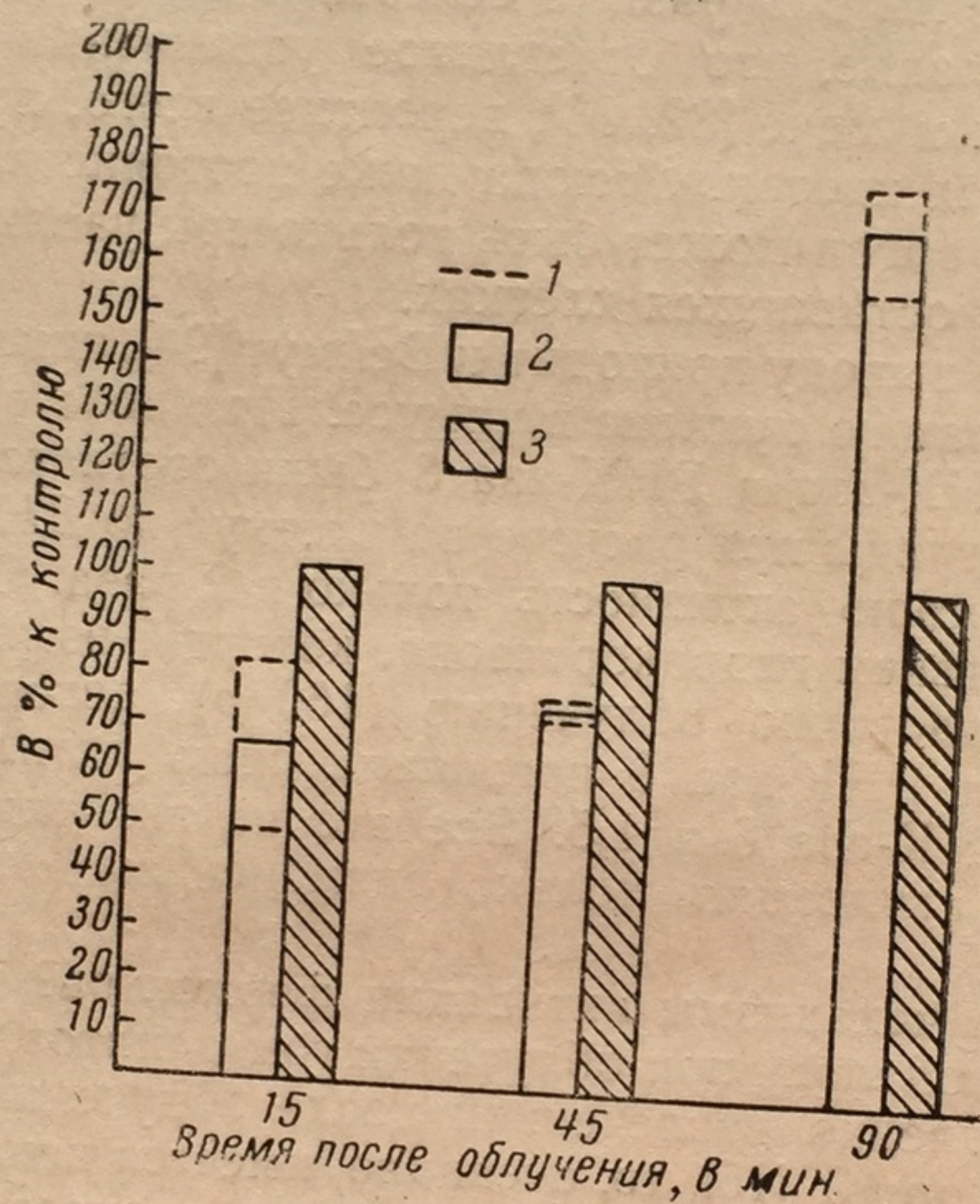


Рис. 66. Активность пероксидазы в проростках кукурузы на 6-й день вегетации при дозе облучения 40 000 p

1 — разброс; 2 — 40 000 p; 3 — контроль

Кузин и Копылов [98] показали, что при облучении 12—14-дневных растений *Vicia faba* дозами 1000, 10 000 и 20 000 p можно наблюдать уже через 4 часа после облучения активацию полифенолоксидазной системы и тирозиназы, достигающей максимума через 24 часа после облучения.

Березина [99] наблюдала при облучении молодых проростков кукурузы массивными дозами (40 000 p) вслед за кратковременным падением активности пероксидаз их отчетливую активацию, которая была ясно заметна через 1,5 часа после облучения, как это видно из графика на рис. 66. Эти эксперименты интересны тем, что, с одной стороны, они выявляют общность процессов, идущих под влиянием облучения в животных и растительных тканях, а с другой стороны, не оставляют сомнения в действительной внутриклеточной активации ферментов, так как в растительной ткани мы не наблюдаем изменений в популяции клеток.



осложняющих процессы в животных тканях. Почти семикратное увеличение активности каталазы было отмечено в облученных дрожжах через несколько часов после облучения [100]. Вычисление чувствительного объема дало величины молекулярного веса порядка 1,5—2 млн., в то время как каталаза имеет мол. в. 250 000. По-видимому, под влиянием облучения изменяется высокополимерный компонент клетки, с которым была ассоциирована каталаза. Ее освобождение и приводит к наблюдаемой активации. Эта точка зрения подтверждается и тем, что каталаза после облучения была значительно более термолабильна, чем каталаза изучаемых клеток. Вопрос об изменении ферментативной активности в клетках облученного организма усложняется и тем обстоятельством, что один и тот же фермент может находиться в клетке (а тем более в ткани) в различных условиях и проявлять различную радиочувствительность. На такую возможность указывает Коциас [101] для холинэстеразы, которая может обладать различной радиочувствительностью в зависимости от местонахождения в водной или липидной фазе. Хютчинсон и Норкросс [102] исследовали инактивацию коэнзима А в различных клетках. Полученные данные приводят авторов к выводу, что в одних клетках коэнзим доступен действию радикалов воды (*E. coli*), в то время как в других (горох, печень) весь коэнзим, или его чувствительная группа, как бы погружены в липидную фазу и его устойчивость соответствует «сухому» состоянию коэнзима А.

Из изложенного материала мы видим, что под влиянием облучения в живой клетке резко изменяется, в первую очередь, соотношение активностей различных ферментов. В то время как одни ферменты не меняют своей активности, активность других уменьшается или увеличивается. Это приводит к нарушению слаженности действия ферментов, к нарушению их строго координированного действия, столь характерного для нормальной жизнедеятельности клетки. На значение этого нарушения координации в действии сложных систем ферментов указывали многие исследователи.

Впервые в 1955 г. Сисакян [96] обратил внимание на значение нарушения согласованного действия ферментов в органеллах клетки. Окада и Флетчер в 1956 г. [103] подчеркивали, что незначительные изменения в активности одного фермента, входящего в неразрывную цепь сопряженных ферментативных реакций, могут привести к значительному изменению конечных продуктов реакции. Это было показано на модельных ферментативных системах с частичным поражением отдельных компонентов [104]. Особое значение изменение активности фермента под влиянием радиации будет иметь тогда, когда данный фермент катализирует процессы, регулирующие скорость обмена, так называемые «определяющие реакции» по терминологии Кребса [105].



Как мы видели выше, в большинстве случаев это изменение активности фермента не является результатом непосредственной инактивации молекулы фермента за счет поглощения энергии фотона. Изменение активности ферментов, как правило, является вторичной реакцией, быстро наступающей в клетке вследствие нарушения ее структурной организованности, изменения свойств ее внутренних поверхностей, мембран и субмикроскопических структур. Однако, несмотря на вторичный характер, эти изменения активности ферментов могут играть существенную, а иногда даже решающую роль в определении дальнейшего течения радиационного поражения и его окончательных результатов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. M. L. May. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **77**, 2, 337, 1951.
2. M. Fisher a. oth. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **83**, 266, 1953.
3. М. Н. Мейсель. В сб.: Действие облучения на организм. Изд-во АН СССР, 1955, стр. 78.
4. C. Brandt, P. Freeman, J. Swenson. *Science*, **113**, 2936, 383, 1951.
5. H. J. Eichel; J. S. Roth. *Biol. Bull.*, **105**, 373, 1953.
6. J. S. Roth, H. J. Eichel. *Biol. Bull.*, **108**, 308, 1955.
7. J. S. Roth, H. J. Eichel, A. Wase, K. Alper, M. J. Boyd. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **44**, 1, 95, 1953.
8. J. Hickman, G. Aschwell. *J. Biol. Chem.*, **205**, 2, 651, 1953.
9. K. Heyningen, A. Pirie, J. W. Boag. *Biochem. J.*, **56**, 3, 372, 1954.
10. A. Pirie, K. Heyningen, J. W. Boag. *Biochem. J.*, **54**, 4, 682, 1953.
11. H. Eichel, J. Roth. *Biol. Bull.*, **103**, 2, 300, 1952.
12. N. M. Fellas, I. Meschan, P. L. Day, C. D. Douglas. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **87**, 231, 1954.
13. C. S. Douglas, P. L. Day. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **89**, 616, 1955.
14. S. Okada, E. R. Gordon, R. King, L. H. Hempelmann. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **70**, 469, 1957.
15. N. B. Kurnick, B. W. Massey, G. Sandeen. *Radiation Res.*, **11**, 101, 1959.
16. H. J. Eichel. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **88**, 1, 155, 1955.
17. H. G. Albaum. *Radiation Res.*, **12**, 186, 1960.
18. R. L. Brent, M. M. McLaughlin, J. N. Stabile. *Radiation Res.*, **9**, 24, 1958.
19. D. E. Smith, J. F. Thomson. *Radiation Res.*, **11**, 198, 1959.
20. H. A. Kunkel, G. Höhne, H. Maass, G. Schubert. В кн.: «Progress in Radiobiology», ed. J. S. Mitchell, Edinburgh 1956, p. 52.
21. S. Cohn, J. Jong. *Amer. J. Physiol.*, **173**, 1, 115, 1953.
22. W. Norris, S. Cohn. *J. Biol. Chem.*, **196**, 255, 1952.
23. H. Q. Woodard. *Brit. J. Radiol.*, **26**, 38, 301, 1953.
24. B. Proctor, M. Coleman, S. Goldblith. *J. Bacteriol.*, **63**, 3, 337, 1952.
25. R. Feinstein, C. Butler, D. Hendley. *Science*, **111**, 149, 1950.
26. H. Euler a. oth. *Ark. kemi, mineral. geol.*, **A**, **26**, 5, 1948.
27. B. Holmes. *Proc. Roy. Soc., B*, **127**, 223, 1939; *Nature*, **165**, 266, 1950.
28. G. Barron, S. Dickman. *J. Gen. Physiol.*, **32**, 537, 595, 1949.
29. S. Hicks. *Amer. J. Pathol.*, **28**, 3, 544, 1952.
30. J. Syverton a. oth. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **80**, 1, 123, 1952.



31. Y. Wenwarth, J. Billows. *J. Radiol.*, **59**, 4, 559, 1952.
32. G. Barron, W. Wolkowitz, J. Muntz. Biological effects of external X and gamma radiation. Pt. I. Ed. by R. E. Zirkle. N. Y., 1954, p. 16, 17.
33. R. N. Feinstein, M. Hampton, G. J. Coffey. *Enzymologia*, **16**, 4, 219, 1953.
34. В. Н. Городинский, П. В. Веселая. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиологии. Секция эксперим. радиол. М., 1956, стр. 56.
35. И. Т. Шевченко. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиобиологии. Секция эксперим. радиол. М., 1956, стр. 58.
36. А. М. Кузин, А. М. Арутюнова. В сб.: Действие ионизирующих излучений на биологические объекты. М., 1956, стр. 84.
37. H. J. Eichel, J. S. Roth. *Radiation Res.*, **12**, 258, 1960.
38. K. C. Smith, B. V. A. Low-Beer. *Radiation Res.*, **6**, 521, 1957.
39. J. L. Howieson, P. G. Roope. *Trans. Kansas Acad. Sci.*, **56**, 3, 330, 1953.
40. D. Cherarducci. *Boll. Soc. ital. biol. sperim.*, **29**, 7, 1493, 1953.
41. H. Q. Woodard, F. D. Spiers. *Brit. J. Radiol.*, **26**, 38, 301, 1953.
42. H. Q. Woodard. *Radiation Res.*, **3**, 3, 359, 1955.
43. C. W. Wilson, *Brit. J. Radiol.*, **29**, 86, 338, 1956.
44. S. H. Cohn, J. K. Jong. *Amer. J. Physiol.*, **173**, 1, 115, 1953.
45. М. А. Преснов. Вестник рентгенол. и радиобиол., **2**, 6, 1955.
46. G. Leoni. *Giorn. psichiatri. e neuropatol.*, **83**, 17, 1955.
47. R. N. Feinstein. *Radiation Res.*, **3**, 224, 1955.
48. R. P. Webber, S. A. Gordon. *Argonne Nat. Lab. Rep.*, N 4713, 91, 1951. 4745, 81, 1951; 4794, 113, 1952; 4840, 71, 1952.
49. S. A. Gordon. *Quart. Rev. Biol.*, **32**, 1, 3, 1957.
50. А. Пирри. В кн.: Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм. М., 1958, стр. 73.
51. S. A. Gordon. в кн.: «Progress in Radiobiol.», ed. J. S. Mitchell. Edinburgh, 1956, p. 44.
52. R. L. Potter, F. H. Bethell. *Federat. Proc.*, **11**, 270, 1952.
53. G. Ashwell, J. Hickman, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **80**, 407, 1952.
54. J. F. Thomson, W. W. Tourtellotte, M. S. Carrar. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **80**, 268, 1952.
55. Goldfeder A. В кн.: «Progress in radiobiology», ed. by I. S. Mitchell, B. E. Holmes a. C. L. Smith. Edinburgh, 1956, p. 69.
56. M. G. Ord, L. A. Stocken. *J. Radiol.*, **28**, 279, 1955.
57. А. М. Кузин, К. С. Тринчер. Биофизика, **5**, 533, 1960.
58. E. Maxwell, G. Ashwell, *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **43**, 389, 1953.
59. А. М. Кузин, Е. В. Будилова. Докл. АН СССР, **120**, 361, 1958.
60. H. Fritz-Niggli. *Naturwissenschaften*, **42**, 585, 1955.
61. H. Fritz-Niggli. *Naturwissenschaften*, **43**, 113, 425, 1956.
62. L. A. Stocken. *Radiation Res.*, Suppl. **1**, 53, 1959.
63. W. A. Creasey, L. A. Stocken *Biochem. J.*, **69**, 17, 1958.
64. В. Я. Калачева. Автореф. канд. дисс., 1957.
65. J. L. Van Lancker. *Biochim. et biophys. acta*, **33**, 587, 1959.
66. F. S. Bollum a. oth. *Cancer Res.*, **20**, 138, 1960.
67. R. E. Beltz, R. L. Applegate. *Biochem. a. Biophys. Res. Commun.*, **1**, 298, 1959.
68. S. Okada, L. H. Hampelmann, *Internat. J. Rad. Biol.*, **1**, 305, 1959.
69. L. Stevens, L. A. Stocken. В кн.: The initial effects of ionizing radiations on cells. London, 1961, p. 195.
70. F. J. Bollum, J. W. Anderegg, A. B. McElyea, Van R. Potter. *Cancer Res.*, **20**, 1, 138, 1960.
71. W. A. Creasey. *Biochem. J.*, **77**, 5, 1960.
72. W. Dale. *J. Cellular a. Compar. Physiol.*, **39**, Suppl. **1**, 39, 1952.
73. A. Vorbrodt. *Exp. Cell Res.*, **15**, 1, 1958.
74. K. P. Dubois, D. F. Peterson. *Amer. J. Physiol.*, **176**, 2, 182, 1953.



75. D. F. Peterson, J. Derooin, K. P. Dubois. *Federat. Proc.*, 12, 1, 376, 1953.
76. D. F. Peterson, F. W. Fitch, K. P. Dubois. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 88, 394, 1955.
77. M. G. Ord, L. A. Stocken. *Brit. J. Radiol.*, 28, 279, 1955.
78. Е. А. Прокудина. *Мед. радиол.*, 4, 6, 47, 1959.
79. Е. А. Прокудина. *Мед. радиол.*, 1, 6, 46, 1956; *Цитология*, 1, 78, 1959.
80. H. Pauly, B. Rajewsky. В кн.: «*Progr. in Radiobiol.*», Edinburgh, 1956, p. 32.
81. M. Webb. *Exp. Cell Res.*, 5, 16, 1953.
82. O. D. Kowlessar, K. J. Altman, L. H. Hempelmann. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, 52, 2, 362, 1954.
83. O. D. Kowlessar, K. J. Altman, L. H. Hempelmann. *Nature*, 172, 867, 1953; *Acta radiol., Suppl.* 116, 695, 1954.
84. V. M. Fellas, I. Meschan, P. L. Day, C. D. Douglass. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 87, 231, 1954.
85. C. D. Douglass, V. M. Fellas, I. Meschan, P. L. Day. *Federat. Proc.*, 13, 201, 1954.
86. O. D. Kowlessar, K. J. Altman, L. H. Hempelmann. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, 54, 355, 1955.
87. Z. M. Bacq, M. Errera. *Rep. of the Rad. Committee of U. N., Document A/AC-821210*, 1956.
88. M. Goutier-Pirotte, A. Thonnard. *Biochim. et biophys. acta*, 22, 396, 394, 1956.
89. J. S. Roth, H. J. Eichel. *Radiation Res.*, 9, 173, 1958.
90. E. R. Gordon, E. Gassner, S. Okada, L. H. Hempelmann. *Radiation Res.*, 10, 545, 1959.
91. W. G. Aldridge, L. H. Hempelmann, V. M. Emmel. *Radiation Res.*, 12, 49, 1960.
92. Р. Е. Либинзон. *Биохимия*, 24, 4, 679, 1959.
93. М. Н. Мейсель, В. А. Сондак. *Докл. АН СССР*, 105, 1221, 1955.
94. P. Weymouth. *Radiation Res.*, 8, 307, 1958.
95. S. Okada, L. E. Peachey. *J. Biophys. a. Biochem. Cytol.*, 3, 239, 1957.
96. Н. М. Сисакян. В сб.: *Действие облучения на организм*. Изд.-во АН СССР, 1955, стр. 137.
97. Е. В. Budnitskaya, I. G. Borisova [Е. В. Будницкая, И. Г. Борисова]. *IV Intern. Congress of Biochem.*, 18, 8, 1958; *Биохимия*, 23, 849, 1958.
98. А. М. Кузин, В. А. Копылов. *Биофизика*, 5, 716, 1960.
99. Н. М. Березина, Е. И. Корнеева, Р. Р. Риза-Заде. *Радиобиология*, 2, 629, 1962.
100. D. L. Aronson, M. J. Froser, C. L. Smith. *Radiation Res.*, 5, 225, 1956.
101. G. C. Cotziass. В кн.: «*Progress in Radiobiol.*», Edinburgh 1956, p. 59.
102. F. Hutchinson, C. Norsross. *Radiation Res.*, 12, 13, 1960.
103. S. Okada, G. L. Fletcher. *Radiation Res.*, 5, 588, 1956.
104. S. Okada, G. L. Fletcher. *Radiation Res.*, 11, 177, 1959.
105. Г. Кребс. В сб.: *Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм*. ИЛ, 1958, стр. 122.

ВЛИЯНИЕ ИОН  
НА СОСТОЯНИЕ  
И НУКЛЕИНОВЫХ

# Введение

В 60-х годах  
накоплен  
«способ с  
ментом котор  
жающей их в  
ствознания об  
нив полностью  
Существенн  
ковых телах. I  
очистки, выде  
показано, что  
вого. Различн  
участие в жиз  
не обладают  
веществ, напр  
среды, росту,  
репродуциров  
го обладают т  
ков, причем н  
кополимерных  
В настоящ  
нуклеопротеи  
личие сложнос  
акции обмена  
ную роль в по  
органелл кле  
слаженность,  
жизни клеточ  
новых источ  
носящих энер  
веществ, тол  
ченную систе  
Ф. Энге



## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ И ОБМЕН НУКЛЕОПРОТЕИДОВ И НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

### Введение

В 60-х годах прошлого столетия, гениально обобщая весь накопленный материал, Ф. Энгельс определил жизнь как «способ существования белковых тел, существенным моментом которого является *постоянный обмен веществ с окружающей их внешней природой...*»<sup>1</sup>. Дальнейшее развитие естествознания обогатило и уточнило эту формулу Энгельса, сохранив полностью ее основную мысль.

Существенное развитие получили наши представления о белковых телах. Благодаря новым способам разделения белков, их очистки, выделения в чистом кристаллическом состоянии было показано, что очищенные белки еще не обладают свойствами живого. Различные виды белка, хотя и принимают непосредственное участие в жизнедеятельности сложного организма, сами по себе не обладают функциями живого, так как не способны к обмену веществ, направленному на ассимиляцию пищи из окружающей среды, росту, воспроизводству живой массы, наследственному репродуцированию себе подобных. Основными функциями живого обладают только очень сложно организованные системы белков, причем необходимым условием является присутствие высокополимерных сложных белковых веществ — нуклеопротеидов.

В настоящее время существование живого немислимо без нуклеопротеидов. Для проявления жизни необходимо также наличие сложной системы белков-ферментов, катализирующих реакции обмена; необходимо присутствие липоидов, играющих важную роль в построении субмикроскопических структур различных органелл клетки, по-видимому определяющих, в свою очередь, слаженность, последовательность ферментативных реакций. Для жизни клеток обязательно также присутствие углеводов как основных источников энергии макроэргических соединений, переносящих энергию с одного процесса на другой, и многих других веществ, только в целом составляющих ту сложную, упорядоченную систему, которая обладает свойствами жизни.

<sup>1</sup> Ф. Энгельс. Диалектика природы. Госполитиздат, 1955, стр. 244.



Однако в этой системе нуклеопротеидам — наиболее сложно построенным полимерам — принадлежит ведущая роль в организации всего процесса жизни.

Явление жизни теснейшим образом связано с наличием сложных структур, регулирующих взаимодействие многочисленных веществ, принимающих участие в обмене и образующих эти структуры. Здесь идет речь и об анатомических структурах сложного организма, о гистологических структурах живой ткани, о клеточных структурах как наиболее распространенной форме жизни, о внутриклеточных микроскопических структурах, и, наконец, о субмикроскопических структурах таких органелл, как ядро, митохондрии, микросомы и другие, выявляемых электронной микроскопией.

Низкомолекулярные вещества способны образовать лишь весьма примитивные структуры кристаллов.

Для возникновения и продолжения жизни должны были возникнуть гигантские молекулы высокополимерных веществ, несущие уже в своем строении элементы сложных структур живых организмов.

В создании необходимых для жизни гигантских молекул с различными физико-химическими свойствами огромное значение имеет процесс полимеризации.

Можно смело сказать, что присутствие полимеров является необходимым условием жизни. Полимеры бывают различной сложности. Простейшие — это монотонные линейные полимеры, образуемые повторением одной простейшей структуры. В результате жизнедеятельности организма такие полимеры образуются, но сами они еще слишком примитивны, чтобы участвовать в процессе жизни. Примерами монотонных линейных полимеров могут быть такие вещества, как клетчатка, каучук.

Уже монотонные разветвленные полимеры, такие, как амилопектин, гликоген активнее включаются в процессы обмена, являясь важными запасными фондами энергетических веществ в живых организмах. Гораздо более сложные функции несут в жизненных процессах полимеры с ограниченно меняющейся структурной единицей, как, например, комплексные полисахариды: гепарин, специфические полисахариды крови, гиалуроновая кислота в соединительной ткани и другие. Следующий, еще более сложный тип полимеров — это беспредельно варьирующие полимеры. К этому типу следует отнести основные вещества живых систем — простые белки и нуклеиновые кислоты. Известно, что полипептидная цепь, построенная из 24 различных аминокислот, так же, как и полинуклеотид, образуемый четырьмя различными нуклеотидами, при достаточной длине цепи может образовать практически бесконечное число вариаций взаимного расположения и последовательности чередования элементарных структурных единиц (аминокислот или нуклеотидов).



Полимеризация достаточно высокомолекулярных полипептидов или полинуклеотидов может дать необозримо большое количество полимеров со своеобразными конечными структурами. Именно здесь и появляется возможность возникновения, на базе этих разнообразных полимеров, тех надмолекулярных структур, которые уже образуют «морфологию» живого.

Наиболее сложными веществами в живом организме и вместе с тем выполняющими наиболее важные функции являются сложные белки — протеиды. И здесь мы встречаемся с различными градациями сложности. Простейшие представители этого класса являются комплексом полимера с низкомолекулярными структурами. Многие белки-ферменты, хромопротеиды, липопротеиды принадлежат к этому классу.

Следующую ступень усложнения мы встречаем в различных глюकोпротеидах, мукоидах и мукополисахаридах. Здесь мы встречаемся уже с комплексом двух полимеров. Один из них — белок — представляет собой высший класс полимеров, с беспрельно варьирующей структурой, второй полимер — полисахарид, как правило, является ограничено изменяющимся полимером. Повсеместное распространение глюкопротеидов, экспериментально доказанная их роль в специфичности, антигенности, проницаемости, вирулентности и многих других свойствах живого, говорят об исключительном значении этих веществ.

Наконец, самым сложным и важным в живых системах являются комплексные полимеры — из двух беспрельно варьирующих полимеров. Это нуклеопротеиды, образованные высокополимерной нуклеиновой кислотой, соединенной с полимером белковой природы. В процессе развития нуклеопротеиды как бы завершают то усложнение вещества, которое оказалось необходимым для осуществления процесса жизни.

Мы далеки от мысли абсолютизировать нуклеопротеиды как какие-то единицы жизни, имеющие независимое существование и всецело предопределяющие развитие и эволюцию организмов. Совершенно ясно, что нуклеопротеиды еще не обладают свойствами жизни. Основное свойство жизни — обмен веществ с внешней средой, направленный на поддержание и развитие живого, — возникает только тогда, когда мы имеем сложнейший, упорядоченный в пространстве комплекс белковых веществ, с их каталитическими свойствами и с наличием многочисленных активаторов, ингибиторов и субстратов обмена.

Нуклеопротеиды, являясь лишь одним звеном в сложной системе взаимосвязанных веществ живого организма, принимают непосредственное участие в обмене веществ; их синтез всецело зависит от поступающих метаболитов, и в случае изменения внешней среды, способного нарушить прежний тип обмена веществ, неизбежно произойдут соответствующие изменения и в строении нуклеопротеида.



Известна удивительная стабильность живого. Серологическими реакциями было установлено, что специфическая структура белков сохранившихся мумий людей, живших несколько столетий до нашей эры, осталась неизменной в тканях современного человека. Однако несомненно, что изменения внешней среды в течение миллиардов лет существования жизни на земле были в состоянии постепенно менять тип обмена веществ, что находило отражение в изменении структуры нуклеопротеидов.

Особое положение нуклеопротеидов в ряду других веществ, участвующих в общем обмене, заключается в том, что благодаря сложной структуре они оказались способными отражать в своем строении свойства вида, выработанные им в процессе эволюции. Таким образом, нуклеопротеиды и в первую очередь нуклеиновые кислоты содержат в себе информацию, необходимую живому организму для его индивидуального развития из половой клетки, для воспроизведения потомства, повторяющего все основные структуры родительского организма.

Как известно, под влиянием ионизирующей радиации в первую очередь меняются свойства живого, непосредственно связанные со строением и обменом нуклеопротеидов, а именно: митотическое деление клеток, рост, синтез специфического белка, дифференциация клеток в процессе индивидуального развития организма и наследственная передача потомству признаков родителей. Отсюда, естественно, возникает гипотеза о большом значении нарушения структуры и обмена нуклеопротеидов в тех изменениях, которые мы наблюдаем при действии ионизирующей радиации на живой организм.

Под влиянием ионизирующей радиации можно ожидать:

1) полного или частичного распада нуклеопротеида на его компоненты, белок и нуклеиновую кислоту или изменения характера их соединения; 2) изменения структуры нуклеиновой кислоты; 3) изменения структуры белкового компонента; 4) изменения синтеза или распада нуклеиновых кислот; 5) изменения синтеза или распада белкового компонента.

Возможности нарушения структур и обмена простых белков под влиянием радиации будут рассмотрены ниже.

В данной главе мы проанализируем лишь экспериментальные данные по влиянию ионизирующей радиации на нуклеопротеиды и нуклеиновые кислоты.

### **Влияние ионизирующей радиации на структуру нуклеопротеидов в клетке**

В настоящее время мы располагаем большим фактическим материалом о большой радиочувствительности дезоксирибонуклеопротеидов и рибонуклеопротеидов в клетках. В 1953 г. Ларионов с сотрудниками [1, 2] исследовали нуклеопротеиды ядер кле-



ток опухоли (саркомы) до и после ее облучения (4000—5000 p). Наблюдение в кварцевом спектрографе показало, что необлученные ядра давали максимум поглощения при 2540 Å, характерный для нуклеопротейда, а ядра после облучения имели максимум при 2600 Å, характерный для свободной нуклеиновой кислоты.

При облучении (1000 p) изолированных ядер из зобной железы теленка наблюдалась потеря структурной вязкости изолированных из них дезоксирибонуклеопротейдов [3].

Облученные ядра медленнее набухали в воде, что служило косвенным доказательством изменения нативных структур нуклеопротейдов ядер [4].

Коли и Эллис, изолируя нуклеопротейд из селезенки облученных и необлученных мышей, показали, что отщепление ДНК в солевых растворах идет более легко от ДНП, выделенного из облученных животных. Характер изменения соотношений между свободной ДНК и ДНП представлен на рис. 67 [5]. Мы видим, что через 4—6 час. содержание свободной ДНК резко возрастает на фоне быстрого снижения количества ДНП. Дальнейшее падение ДНК связано с активностью нуклеаз, вызывающих глубокую деполимеризацию ДНК.

Аналогичные изменения ДНП были обнаружены в костном мозгу у облученных животных [6]. ДНП, изолированный из селезенки мышей после облучения (850 p), значительно быстрее отщеплял ДНК при триптическом переваривании, чем ДНП, взятый у контрольных животных [7]. При хроматографии на колонке из фосфата кальция ДНП, изолированного из селезенки облученных мышей, удалось обнаружить компонент, отсутствующий в контроле [8]. Все эти данные говорят о том, что под влиянием облучения лабилируются связи ДНК с белком, и в структуре нативного нуклеопротейда происходят определенные изменения. Об этих изменениях можно судить и по работам Мейсея и Сондак.

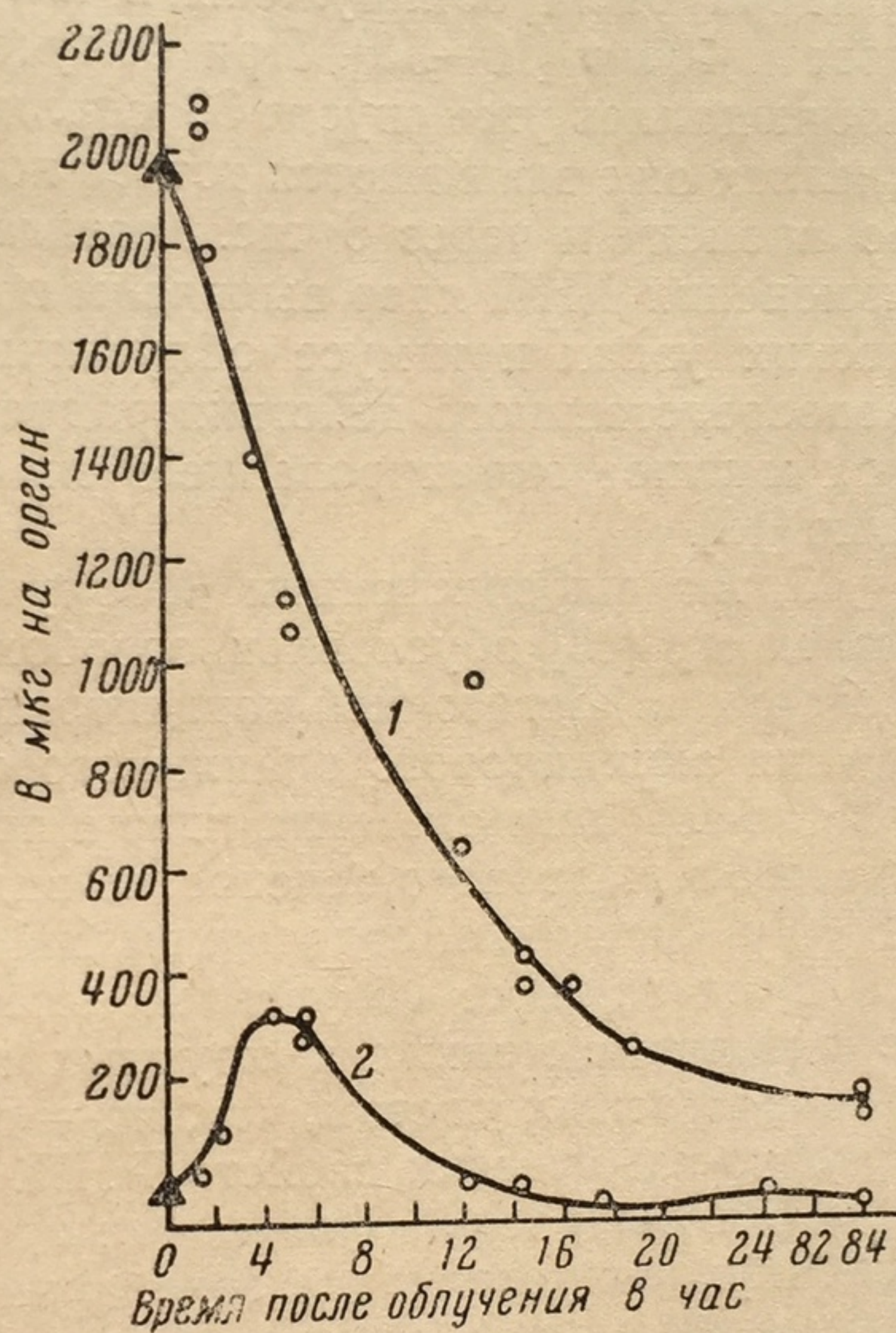


Рис. 67. Изменение содержания ДНП (1) и свободной ДНК (2) в селезенке мышей после тотального облучения 810 p



исследовавших состояние нуклеопротеидов в клетках методом флуоресцентной микроскопии [9, 10].

Изменения в флуоресценции клеточных ядер при прокраске акридиновым оранжевым трактуются авторами как результат денатурации ДНП и отделения ДНК от белка [9]. Эти изменения в ядрах были обнаружены в клетках костного мозга уже при дозе в 100 *p* [10—12]. При облучении дозой в 500 *p* изменения наблюдались уже спустя 30 мин. после облучения, а в единичных клетках они выявляются тотчас после облучения, накапливаются во времени и через 6 час. достигают максимума. Аналогичные изменения ДНП ядер выявлены в клетках селезенки, в лимфатических узлах и тимусе облученных животных. Они зависят от непосредственного действия радиации на изучаемые клетки, так как местное экранирование в значительной мере снимало реакцию [12].

Сдвиг флуоресценции в облученных клетках от зеленого к красному [13] обусловлен освобождением нуклеиновых кислот, которые в достаточной концентрации сдвигают максимум поглощения акридинового оранжевого с 465 к 502 *мк* [14]. Переход светло-зеленого свечения ядер в присутствии акридинового оранжевого в желтовато-зеленое, по-видимому, связан с денатурацией ДНП и частичным отделением ДНК от белка [15].

В цитоплазме облученных клеток те же авторы наблюдали образование мелких и крупных гранул, флуоресцирующих огненно-красным светом, что, по-видимому, связано с изменением физико-химических свойств РНП.

Для выявления физико-химических изменений в состоянии рибонуклеопротеидов митохондрий после облучения целого организма Шабадаш использовал гистохимическую технику избирательной сорбции красителя при разных *pH* среды [16—18]. Предложенный метод позволяет определять сдвиги изоэлектрической точки рибонуклеопротеида (РНП) в органеллах клеток. Было показано, что уже через минуту после облучения крыс дозой в 1000 *p* (мощность 190 *p/мин*) изоэлектрические точки РНП митохондрий афферентных клеток спинномозговых ганглиев сдвигаются почти на единицу шкалы *pH*, а через 5—10 мин. этот сдвиг достигает величины 1,2—1,4 [19] в сторону снижения кислых группировок (или увеличения основных).

Эти сдвиги в физико-химическом состоянии РНП митохондрий в морфологически устойчивых к радиации нервных клетках наблюдаются в течение всего латентного периода (7—8 суток).

В морфологически радиочувствительных клетках, вслед за кратковременным сдвигом в щелочную сторону, наблюдается сдвиг в кислую, который непосредственно предшествует видимым в микроскоп морфологическим изменениям митохондрий [20]. Интересно отметить, что и в необлученных клетках изоэлектрическая точка ДНП ядер различных тканей тем более сдвинута в



кислую сторону, чем более радиочувствительна ткань. Это наглядно видно из данных, полученных Шабашом и представленных на рис. 68 [20].



Рис. 68. Изoeлектрическая точка ДНП ядер клеток из различных тканей

1 — селезенка; 2 — слизистая кишечника; 3 — тимоциты; 4 — мозг; 5 — печень; 6 — почки; 7 — фиброциты; кривая — относительная радиочувствительность клеток

О распаде рибонуклеопротеинов в тимусе кролика через 24 часа после облучения дозой в 200 р и через 8—16 час. дозой в 650 р говорят также исследования Хесс и Лагг [21], изучавших физико-химические свойства солевых экстрактов (0,15 М NaCl) из тимуса тотально облученных животных.

Многочисленные исследования инактивации вирусов и фагов под влиянием облучения привели к выводу, что даже один трек, прошедший через частицу, способен осуществить ее инактивацию. Работами Александера с сотрудниками [22, 23] показан параллелизм между возникновением сшивок нуклеотидных цепей и инактивации вируса. В литературе имеются данные о том, что в инактивации бактериофага при облучении его водных растворов большую роль играют Н-радикалы [24—27], что, однако, не удалось подтвердить в экспериментах с трансформирующей ДНК [28, 29]. Сравнительное исследование действия перекисей и рентгеновских излучений на трансформирующий агент и фаги показало близость их действия: и в том и в другом случае наблюдалась ломаная линия инактивации. Это приводит авторов к выводу, что при облучении существенная роль в инактивации трансформирующего агента и фагов принадлежит промежуточным продуктам — перекисям [30].

Все приведенные опыты убеждают нас в том, что облучение живых клеток даже небольшими дозами приводит к изменению нативного состояния нуклеопротеидов и, следовательно, нарушению тех субмикроскопических структур, в построении которых



они принимают непосредственное участие (хромосомы, митохондрии и др.).

Рассмотренные выше данные говорят о том, что на ранних стадиях развития лучевой реакции клетки происходит нарушение связей нуклеиновых кислот с белком, лабильзация этих связей и даже, быть может, частичный распад нуклеопротеида (НП) на белок и свободную нуклеиновую кислоту. Из приведенных опытов не ясно, является ли это результатом непосредственного поглощения энергии макромолекулой НП или же следствием изменения под влиянием радиации нуклеиновой кислоты или белка.

Отчетливо выраженная зависимость изменения НП от времени после облучения не исключает вторичного происхождения этих нарушений, например в результате активации и деятельности ферментов или активных метаболитов, образующихся в цитоплазме. Последнее предположение хорошо объясняло бы наблюдаемое методом флюоресцентной микроскопии постепенное увеличение количества пораженных клеток с измененными НП вокруг первоначально возникшего центра поражения в ткани животного.

#### **Влияние ионизирующей радиации на структуру нуклеиновых кислот в клетке**

Ранее мы видели, как легко происходит деполимеризация высокополимерной ДНК при облучении ее разбавленных растворов. Большое количество исследований было проведено за последнее десятилетие, чтобы составить правильное суждение о судьбе ДНК в клетках различных тканей при облучении целого организма. Еще в первых исследованиях, посвященных судьбе ДНК в облученном организме, было отмечено, что при облучении *in vivo* сразу после облучения деполимеризация ДНК весьма незначительна, но она развивается во времени и спустя 24 часа оказывается весьма глубокой.

Лаймпироз и Мошер [31] ставили опыты с крысами, у которых сразу же после облучения и спустя 24 часа изолировалась ДНК из зубной железы и исследовались ее структурная вязкость, двойное лучепреломление в потоке и константа седиментации. Некоторые из результатов этих опытов представлены в табл. 40.

Как видно из этих данных, непосредственно после облучения никаких изменений в свойствах ДНК отмечено не было, но спустя 24 часа наблюдалась ее полная деполимеризация. Близкие данные были получены и для ДНК слизистой кишечника [32]. ДНК, изолированная из печени облученных животных, как показал Батлер [33], мало чем отличалась от контроля.

Кузин и Будилова [34] исследовали структурную вязкость ДНК, изолированной из радиочувствительных и радиоустойчивых



Таблица 40

## Изменение ДНК зубной железы после тотального облучения крыс [31]

ДНК	Двойное лучепре- ломление в потоке, мм	$\eta$
Контроль . . . . .	480	3432
Сразу после облучения 1000 р . . . . .	435	3155
То же, 2000 р . . . . .	470	3549
Через 24 часа после облучения 1000 р	0	1620

тканей крыс, спустя 24 часа после тотального облучения дозой в 1000 р. Полученные результаты представлены на рис. 69 и 70.

Из представленных кривых видно, что ДНК, выделяемая из селезенки, была почти полностью лишена структурной вязкости, в то время как физико-химические свойства ДНК из тканей головного мозга совершенно не менялись. Даже облучение дозой в 10 000 р не меняло структурной вязкости ДНК, изолируемой из ткани головного мозга. Авторы высказали предположение, что причину различного поведения ДНК *in vivo* в различных тканях следует искать в неодинаковом действии ферментов деполимераз в различных тканях. На участие деполимераз указывали опыты Будиловой по облучению гомогенатов селезенки, полученных в присутствии ингибитора нуклеаз — лимоннокислого натрия. В этих условиях нуклеиновые кислоты оказываются значительно более устойчивы, чем в целом функционирующем органе [34]. Участие деполимераз в распаде ДНК подтверждалось и тем, что отчетливые изменения ДНК обнаруживались лишь спустя несколько часов после облучения.

Глубокая деполимеризация ДНК не происходит за счет непосредственного действия радиации потому, что даже при облучении высокополимерной ДНК в растворах дозами в 30—70 тыс. р имеет место лишь грубая поломка макромолекул без далеко идущей деполимеризации. В живой клетке ДНК в значительной мере защищена белком и поэтому маловероятно предполагать, что наблюдаемый распад идет чисто радиационно-химическим неферментативным путем.

И действительно, Кузин, Стражевская и Стручков [35] показали, что если в процессе выделения ДНК полностью исключить действие ферментов путем использования видоизмененного ферментального метода Кирби [36], то можно показать значительно большую устойчивость ДНК после облучения в нераспавшихся клетках.

В табл. 41 приведены данные, полученные этим методом.

Как видно из приведенных результатов, сразу после облучения и в течение ближайших 2 час. не удастся обнаружить



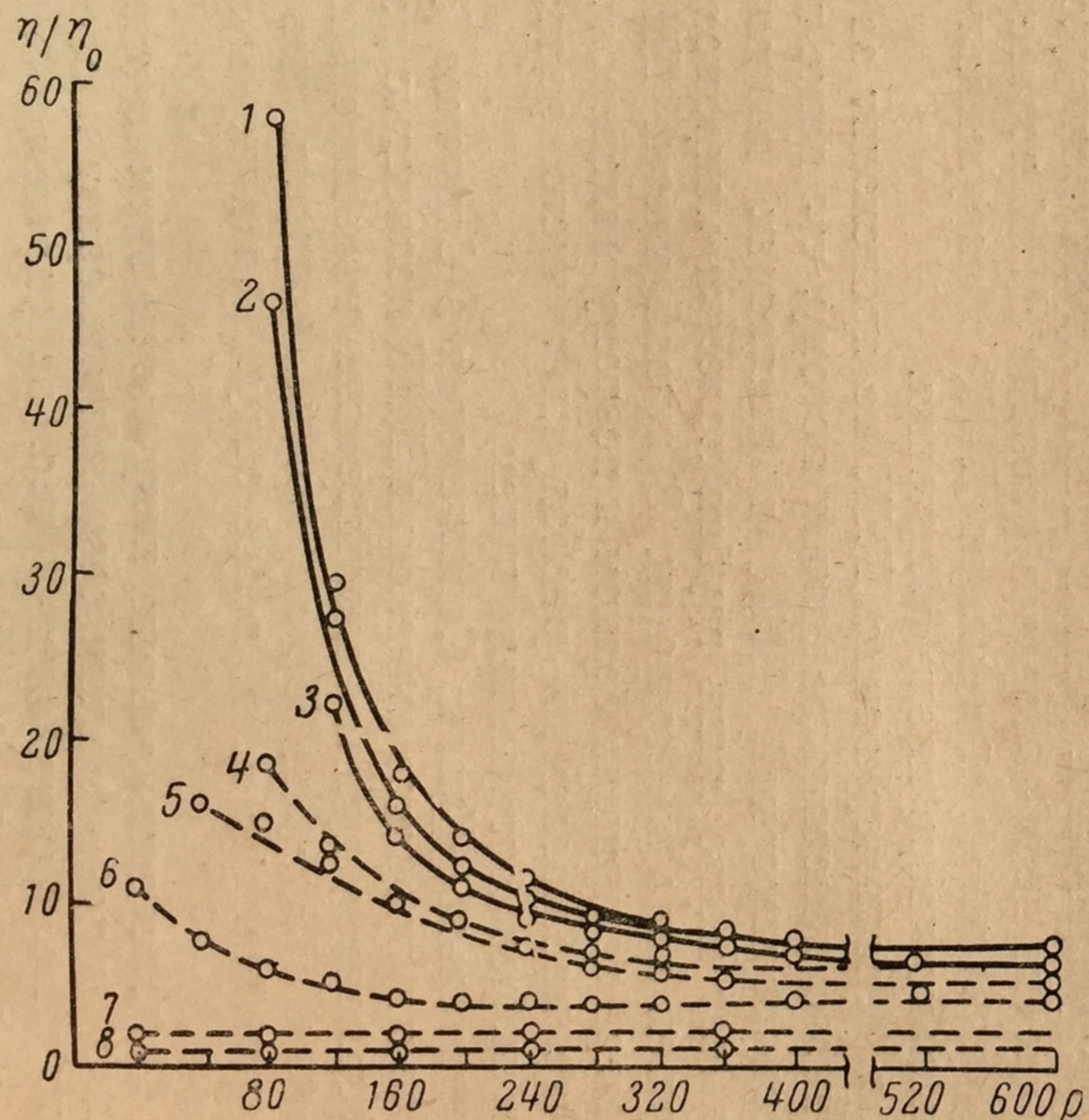


Рис. 69. Влияние общего облучения крысы на структурную вязкость ДНК селезенки

1, 2, 3 — контроль; 4, 5, 6, 7, 8 — опыт

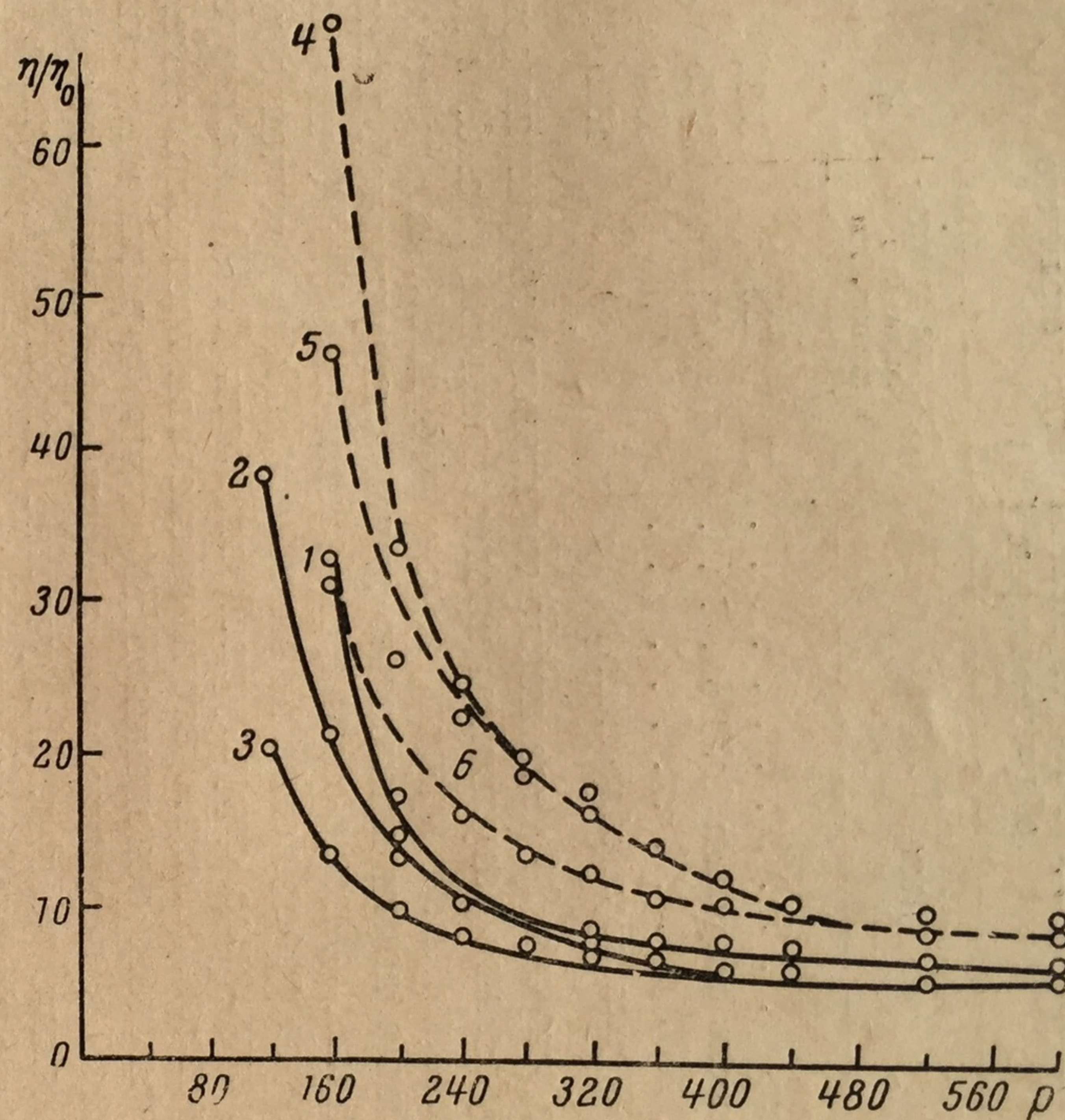


Рис. 70. Влияние общего облучения крысы на структурную вязкость ДНК мозга

1, 2, 3 — контроль; 4, 5, 6 — опыт



Вязкость ( $\eta_{уд/c}$ ) и содержание ДНК в органах облученных и необлученных крыс

Доза облучения, $p$	Время после облучения	Тимус		Селезенка		Печень	
		$\eta_{уд/c}$	количество ДНК, % к контролю	$\eta_{уд/c}$	количество ДНК, % к контролю	$\eta_{уд/c}$	количество ДНК, % к контролю
0	0	$97 \pm 7$	100	$111 \pm 6$	100	$83 \pm 3$	100
1000	10 мин.	$95 \pm 6$	100	$109 \pm 8$			
	2 часа	$89 \pm 4$	83	$109 \pm 6$	—	$83 \pm 3$	90
	4 часа	$54 \pm 6$	70	$106 \pm 4$	78	$78 \pm 4$	90
	24 часа	$20 \pm 2$	25	$98 \pm 1$	25	$82 \pm 6$	75
20 000	10 мин.	$50 \pm 2$	—	$52 \pm 2$	—	$50 \pm 2$	—

заметных изменений в приведенной вязкости изолируемой ДНК. Числовые значения приведенной вязкости (80—110), согласно исследованиям Спитковского [37], свидетельствуют о наличии ДНК с молекулярным весом 8—10 млн.

Неизменность молекулярного веса и сорбционных свойств ДНК тимуса в первые 1—2 часа после облучения крысы дозой в 1000  $p$  была показана Орд и Штокен [38].

В более поздние сроки после облучения, по-видимому, вследствие активации нуклеаз начинается деградация молекул ДНК. Интересно, что в селезенке, несмотря на резкое падение содержания ДНК (вследствие ее глубокой деполимеризации и удаления), изолируемая из оставшихся клеток ДНК сохраняет почти исходную приведенную вязкость.

Предположение о ферментативном разрушении молекул ДНК побудило нас провести исследование полимеризационных спектров ДНК, изолированной из организма облученного животного, а также ДНК после воздействия малых количеств кристаллической ДНК-азы [39]. Была использована методика хроматографии ДНК на колонке с эктиолцеллюлозой, разработанная Бендич [40]. Как видно из полученных результатов, представленных на рис. 71, никаких существенных изменений в полимеризационном спектре ДНК тотчас же после облучения не происходит. Через 24 часа появляется отчетливое различие, выражающееся в том, что количество высокополимерных фракций (IV и V) уменьшается, а низкомолекулярных фракций I и III явно возрастает. Результаты модельных опытов в присутствии ДНК-азы дали результаты, представленные на рис. 72. Хроматограмма Б была получена после добавления к нативной ДНК небольших количеств фермента и полной остановки ферментативной реакции цитратом натрия сразу же после снижения вязкости раствора.



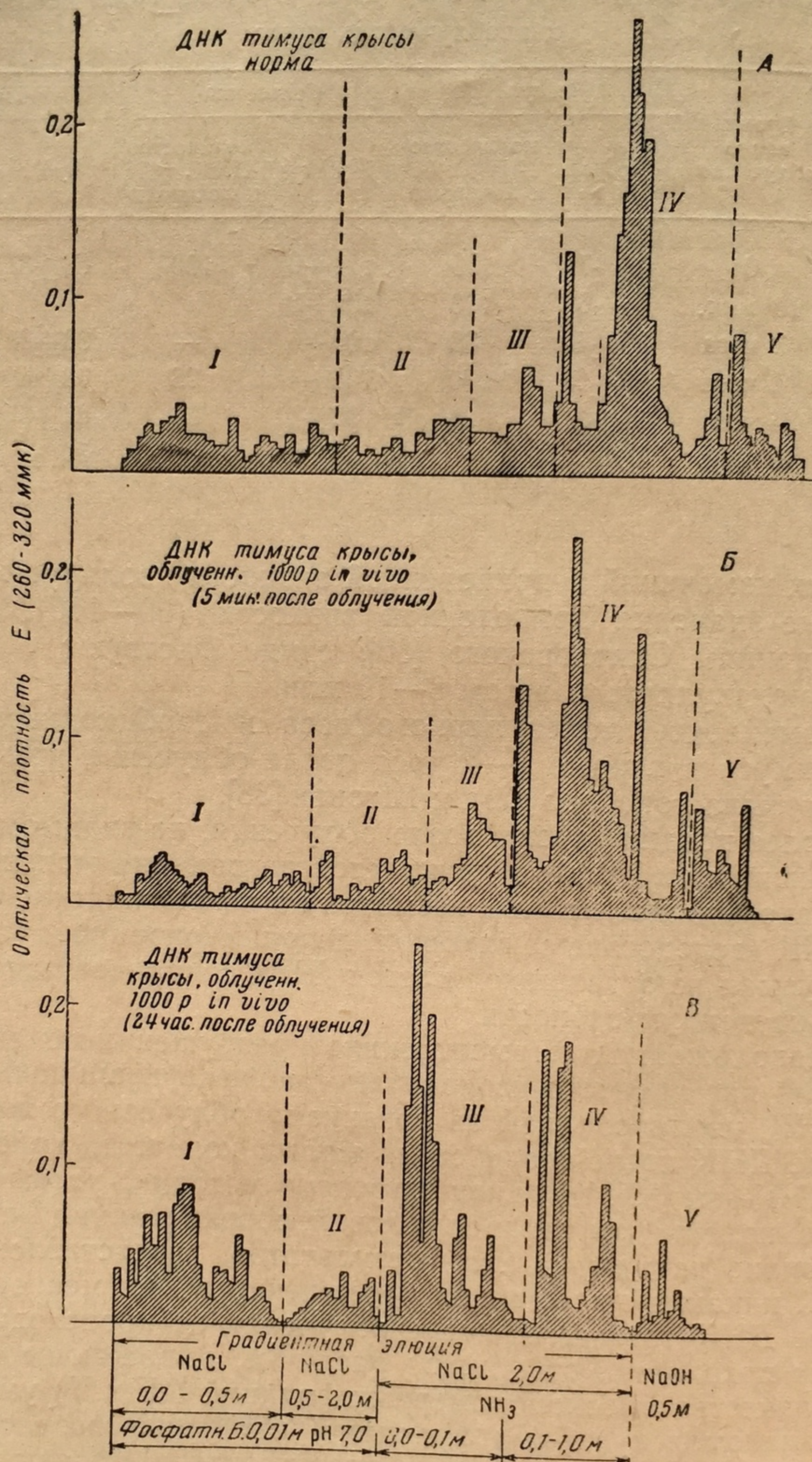


Рис. 71. Хроматограммы ДНК тимуса крысы, извлеченной через 5 мин. и 24 часа после облучения животного в дозе 1000 p



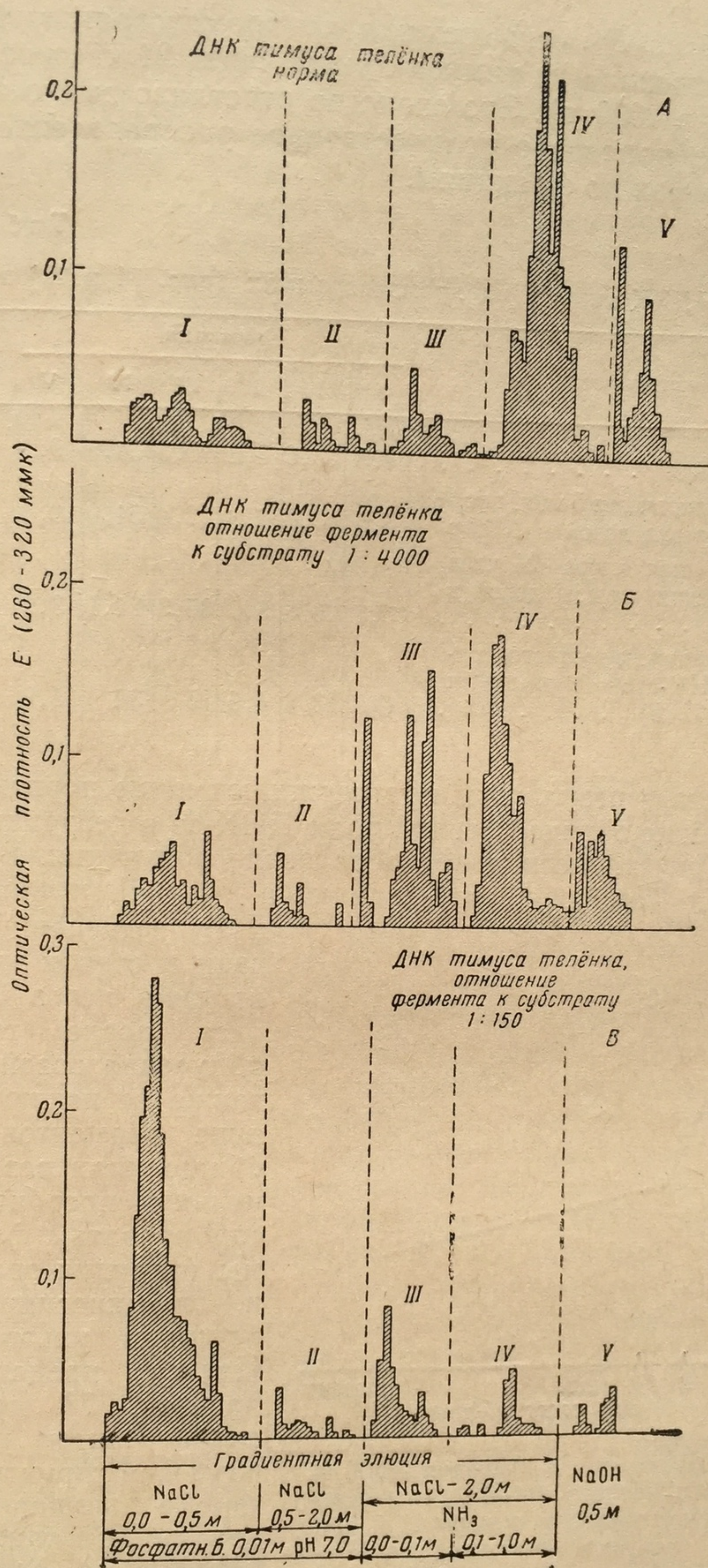


Рис. 72. Хроматограммы ДНК тимуса после ферментативной деградации in vitro



Хроматограмма Б очень похожа на хроматограмму В рис. 71 (ДНК, извлеченная из тимуса крысы через 24 часа после облучения дозой в 1000 р). Это сходство отчетливо видно из данных табл. 42, где приведено количественное распределение ДНК на хроматограммах по фракциям.

Таблица 42

Распределение ДНК тимуса на хроматограммах (рис. 71 и 72) по фракциям

Хроматограмма	Фракции						Возврат, % от исходной Е
	0	I	II	III	IV	V	
ДНК нормальная . . . . .	7,3	13,6	8,2	10,3	51,5	9,1	95±2
ДНК, извлеченная через 5 мин. после облучения крысы дозой в 1000 р	5,5	12,0	7,9	12,1	51,0	10,4	92±0,3
ДНК, извлеченная через 24 часа после облучения крысы дозой в 1000 р . . . . .	5,7	29	5,0	35,3	21,1	3,9	97,5±2,2
ДНК после кратковременного воздействия ДНК-азой в опыте in vitro (рис. 72 Б) . . . . .	6,8	23,4	4,6	25	32	5,6	97±2,5

Полученные результаты подтверждают наше первоначальное предположение о существенной роли ДНК-аз в деградации молекул ДНК, спустя несколько часов после облучения. В интересных опытах Тороповой и Позднякова [41, 42], исследовавших

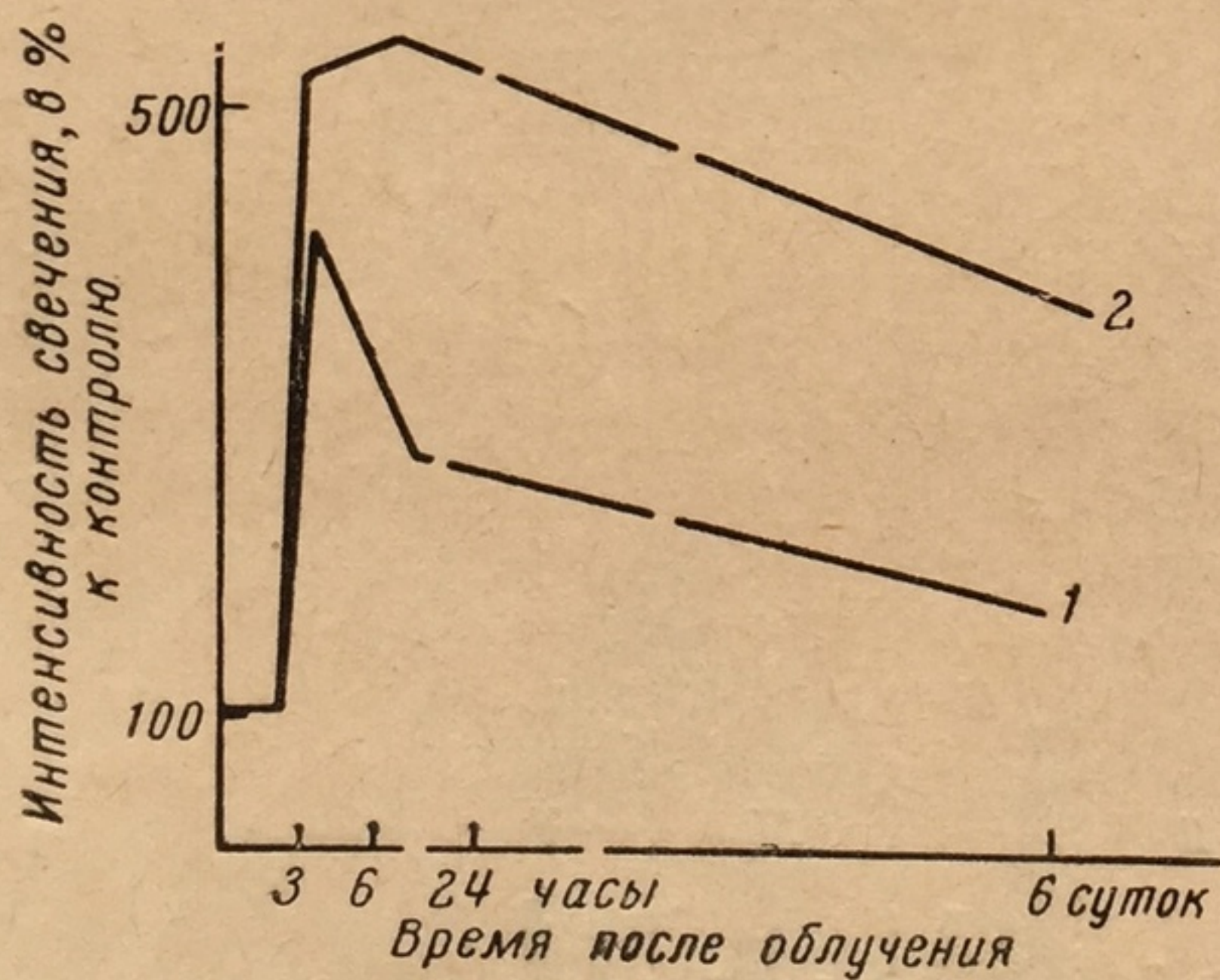


Рис. 73. Интенсивность свечения ДНК из органов облученного (1100 р) животного в присутствии флуорохрома, в процентах к контролю

1 — ДНК из стенки кишечника; 2 — ДНК из печени

ДНК, выделенную из печени и стенок кишечника кролика через 3, 6 и 24 часа после тотального облучения дозой в 1100 р, также не исключено влияние ферментов. Авторы обнаружили резкие изменения в способности ДНК сорбировать флуорохромы (акридин-оранжевый) и люминесцировать в ближнем ультрафиолете. Данные, представленные на рис. 73, говорят о значительном изменении нативной структуры ДНК через 6 час. после облучения даже в таком радиостойчивом органе, как печень. Одновременно авторы отмечали изменение



соотношения между N и P, которое падало с 1,67 до 1,47, начиная с третьего часа после облучения. Авторы сопоставляют увеличение свечения с падением содержания азота в ДНК.

Изолируя ДНК из ядер клеток облученных животных, эти же авторы установили некоторые изменения физико-химических свойств ДНК в первые часы после облучения [42].

Необходимость определенного времени с момента облучения (обычно 2—6 час.) для выявления физико-химических сдвигов в состоянии ДНК указывает на вторичный характер этих изменений.

Устойчивость молекул ДНК в живых клетках к непосредственному действию радиации может быть продемонстрирована и другими экспериментами.

Дифилипс и Джишд [43] показали, что ДНК, обладающая трансформирующей активностью, в разбавленных растворах очень радиочувствительна. Облучение дозами в 200—600 p вызывает значительное падение ее трансформирующей активности. Если же облучать живые клетки, а затем извлекать из них ДНК, то, как следует из работ Дри [44] и Норман и Фойлд [45], даже при дозах в 10 000 и 100 000 p ДНК сохраняла свои трансформирующие свойства.

Александр [46, 47] на основании радиохимических исследований приходит к выводу, что непосредственное поражение ДНК или ДНП вряд ли является первичным поражением, приводящим к гибели клетки.

Принципиально новое освещение вопроса о радиочувствительности нативных структур ДНК в живой клетке было получено у нас в лаборатории в результате исследований 1960—1962 гг. Исходя из работ Дэвисона [48], Херчи [49] и других, Георгиев и Стручков [50] разработали метод выделения ДНК из тканей животного в особо полимерном состоянии с молекулярным весом  $\sim 40$  млн. Исследование поведения этой высокополимерной ДНК в эластовискозиметре обнаружило аномально высокие показатели приведенной вязкости — порядка 400, вместо обычных 80—100, получаемых для ДНК, извлеченной обычными методами. Реалогические исследования этой ДНК привели к представлениям, что при избранном методе извлечения мы имеем дело с агрегатами, надмолекулярными структурами ДНК [51]. Исследования полученной ДНК в электронном микроскопе, проведенные Стручковым, Джоун-хе и Стражевской [52], дали картину, представленную на рис. 74.

Наличие таких «надмолекулярных» структур ДНК было показано в клетках костного мозга и эритроцитах кур [53], в клетках асцитного рака Эрлиха [53], в клетках бактерий *E. coli* [54], в тканях тимуса и печени [55].

Было показано, что эти структуры чрезвычайно чувствительны к действию радиации *in vivo*. При облучении целого



организма летальными дозами эти «надмолекулярные» структуры оказывались значительно разрушенными тотчас после облучения. Основные экспериментальные данные представлены в табл. 43.

Таблица 43

Изменение эластовязкостных свойств ДНК из облученных организмов  
вскоре после облучения

Объект исследования	Доза, р	Эластовязкостные свойства ДНК		Литературный источник
		контроль необлученный	после облучения	
Эритроциты кур	1200	421±18	333±32 сразу	[53]
			204±20 через 15 мин.	
	2500		234±32 сразу	
Клетки костного мозга кур			169±35 через 30 мин.	[53]
	1200	430±20	318±10 сразу	
			220±34 через 30 мин.	
Клетки асцитного рака Эрлиха на 7-й день	2500	452±36	240±24 сразу	[53]
E. coli в логарифмической фазе роста	2000	203±14	94±5 сразу	[54]
E. coli в состоянии покоя	2000	106±3,8	108±1,7 сразу	[54]
Клетки тимуса крыс	1000	665±25	412±90 через 15 мин.	[55]
Клетки печени крыс	1000	314±30	216±40 через 15 мин.	[55]

Анализируя полученные данные, мы видим, что «надмолекулярная структура ДНК» *in vivo* чрезвычайно чувствительна к непосредственному действию радиации. Тотчас после облучения (10—15 мин.) эта структура оказывается значительно нарушенной. Как показывают снимки, под электронным микроскопом наблюдается распад агрегированных структур с образованием обычных нитей молекулярной ДНК [52]. Интересно отметить, что эластовязкостные свойства нативной ДНК довольно сильно варьируют в клетках различного происхождения. Особенно высокие значения этого показателя получены для ДНК, извлеченной из интенсивно делящихся клеток, что наглядно видно из сравнительных данных табл. 43. Полученные результаты наводят на мысль, что надмолекулярные структуры ДНК прежде всего необходимы для деления клетки и что, быть может, их разрушением объясняется подавление деления под влиянием облучения.

Нарушение нативной структуры ДНК тотчас после облучения может иметь существенное значение и для целостности субмикроскопических мицелл и мембран, в построении которых принимает участие ДНК.



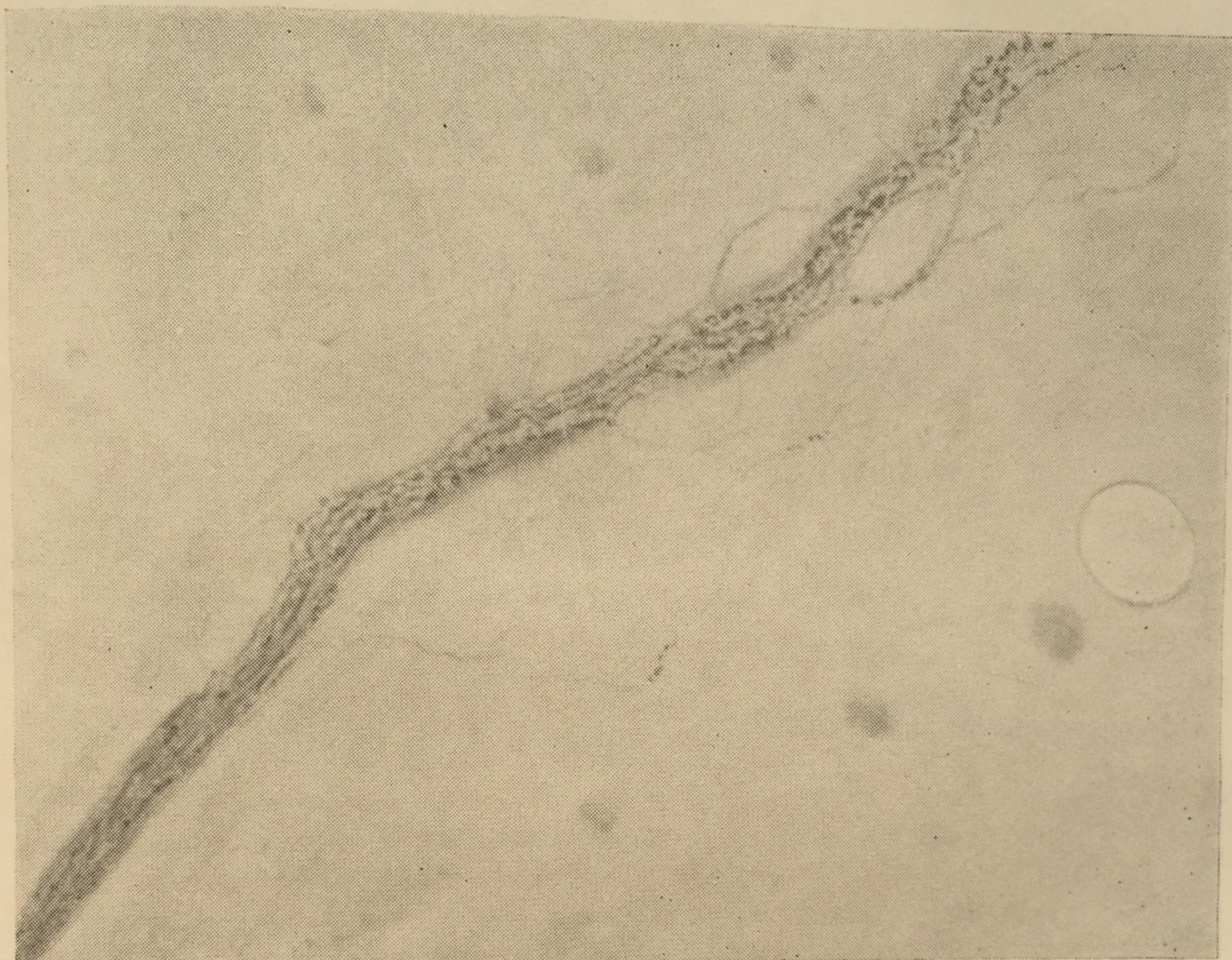


Рис. 74. Электронномикроскопический снимок надмолекулярной ДНК  
извлеченной из тимуса крысы



В первую  
менения стр  
ферментов, к

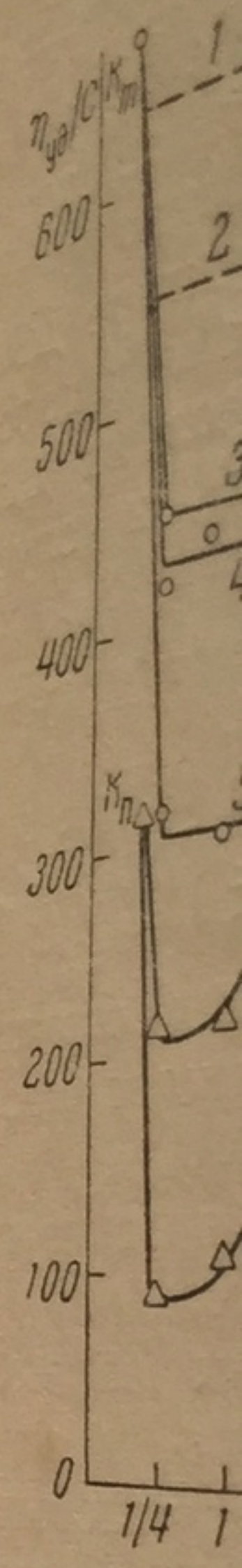


Рис. 75. Эласто  
кры  
Кт — контроль для  
1 — 50 р; 2 — 200  
6 —  
Пр

цессов обмен  
в клетке (из  
за ДНК и д  
наруженное  
ДНК резуль  
также следс  
Для отве  
вели исслед  
и печени в  
Полученные  
Как видн  
15 мин.) наб



В первую очередь это относится к строению хромосом. Изменения структур могут привести к изменению активности ферментов, которое ведет к последовательным нарушениям про-

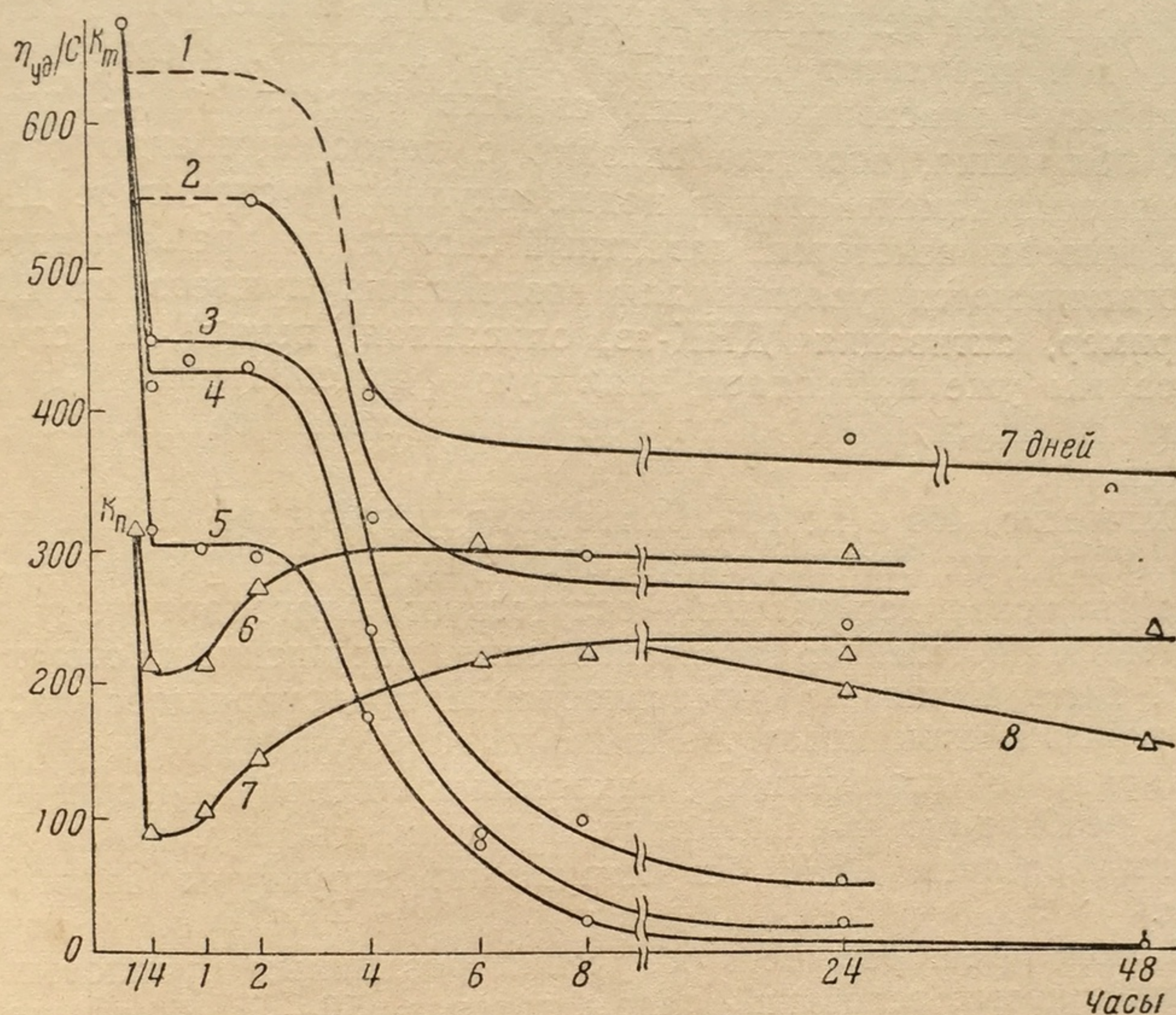


Рис. 75. Эластовязкостные свойства ДНК, извлеченной из тимуса и печени крыс в разные сроки после облучения (доза 1000 p)

$K_t$  — контроль для тимуса;  $K_p$  — контроль для печени; 1—5 — ДНК тимуса облученного: 1 — 50 p; 2 — 200 p; 3 — 500 p; 4 — 100 p; 5 — 5000 p; 6—8 — ДНК печени облученной: 6 — 1000 p; 7 — 5000 p; 8 — 5000 p (регенерирующая печень). Прерывистые линии означают недостоверную часть кривых.

цессов обмена, вызывающим видимые радиационные поражения в клетке (изменение ядра, поломки хромосом, остановка синтеза ДНК и др.). Естественно возникал вопрос, является ли обнаруженное изменение эластовязкостных свойств нативной ДНК результатом непосредственного действия радиации или также следствием вторичного воздействия ферментов.

Для ответа на этот вопрос Стражевская и Стручков провели исследование эластовязкостных свойств ДНК в тимусе и печени в различные сроки после облучения животного [55].

Полученные ими данные представлены графически на рис. 75. Как видно из этого графика, тотчас после облучения (10—15 мин.) наблюдается резкое падение эластовязкостных свойств



ДНК в радиочувствительной ткани тимуса. В дальнейшем около двух часов не наблюдается изменения физико-химических свойств ДНК, затем постепенно изменяется ее вязкость и к 24 часам наблюдается полная потеря структурной вязкости. Этот двухступенчатый характер распада может быть истолкован как результат действия двух агентов. Первоначальное падение эластовязкостных свойств, происходящее тотчас после облучения, вероятно связано с непосредственно радиохимическими изменениями в надмолекулярной структуре ДНК. Затем имеется некоторый латентный период, во время которого подготавливаются условия для воздействия нуклеаз на ДНК (например, активация ДНК-аз, описанная выше), и спустя 2 часа мы уже наблюдаем типичную ферментативную деградацию молекул ДНК с глубоким падением ее вязкостных свойств.

Интересно, что в печени, более радиоустойчивой ткани, первая стадия идет так же, как и в тимусе, но второй процесс — ферментативная деградация — отсутствует, благодаря чему наблюдается постепенное восстановление нарушенных структур ДНК. Быть может, это восстановление предотвращает массовую гибель клеток, которую мы наблюдаем в тимусе.

Наряду с изменением макромолекулярной организации ДНК, необходимо иметь в виду возможность изменения отдельных звеньев ДНК без нарушения структуры ее молекулы.

В модельных реакциях облучения различных пуриновых и пиримидиновых оснований рядом авторов [56—58] была показана большая радиочувствительность пиримидиновых циклов.

Токарская в нашей лаборатории исследовала нуклеотидный состав ДНК зародышей семян гороха после облучения сухих семян  $\gamma$ -лучами дозой в 10 000 p [59]. Если извлекать ДНК тотчас после облучения из сухих семян, то нуклеотидный состав ее близок к норме. Но если облученные семена намочить и спустя 24 часа извлечь ДНК, то ее нуклеотидный состав резко изменяется. При неизменном содержании пуриновых оснований отчетливо снижается количество пиримидиновых оснований и особенно тимина. Создается впечатление, что первоначально нанесенное радиацией повреждение кольцу тимина в присутствии воды и кислорода ведет к его разрушению.

Снижение отношения тимин: аденин в ДНК животных тканей после их облучения наблюдали Беренбом и Петерс [60] и Палечек [61], правда, спустя 48—72 часа после облучения, что могло явиться уже результатом нарушенного синтеза, а не изменением существующей к моменту облучения ДНК.

В ряде работ отмечается быстро наступающее уменьшение азота в изолируемой ДНК в ранние сроки после облучения [31, 62].



На основании приведенных выше экспериментальных результатов можно допустить следующую последовательность процессов, наступающих в облученной клетке. Энергия, поглощенная надмолекулярными структурами ДНК, мигрирует по этим структурам и проявляется в активации тимидиновых и в меньшей мере цитидиновых колец по месту неустойчивой двойной связи (3—4). В присутствии кислорода и воды наступают быстро протекающие цепные реакции окисления тимидина и частично цитозина, что нарушает упорядоченную структуру двойной спирали ДНК, вызывая ее деформацию. Последнее делает невозможным «упаковку» нативных молекул в надмолекулярные структуры и ведет к их распаду, что и было обнаружено почти тотчас после облучения. Распад надмолекулярных структур ДНК изменяет нативные свойства ДНП, что приводит к нарушению тех микроструктур клетки, в образовании которых ДНП принимает существенное участие (ядро, хромосомы). Вероятно, аналогичные процессы идут одновременно и в рибонуклеиновой кислоте с нарушением нативной структуры рибонуклеопротеидов, что, в частности, и было показано в нашей лаборатории для РНП митохондрий. Освободившиеся в митохондриях ДНК-азы диффундируют к ядру и вследствие произошедших в нем изменений проникают в него и входят в контакт с ДНК. Эти процессы требуют времени и осуществляются в течение 1—2 час. после облучения. Спустя этот период времени (для различных клеток он может быть различен), начинается биохимическое усиление начавшегося радиохимического распада ДНК, т. е. ее распад под влиянием ДНК-аз. Дальнейшая ферментативная деградация ДНК (и, вероятно, РНК) идет в основном в так называемых радиочувствительных тканях, являясь одной из причин последующей гибели клетки. Ферментативные процессы распада наступают не во всех клетках.

В этом случае в ДНК наблюдается только небольшое изменение структуры (например, окисление нескольких тимидиновых колец). Эти изменения могут проявиться, когда клетка начнет цикл деления — в появлении хромосомных aberrаций, начнет цикл деления — в появлении хромосомных aberrаций, в неправильных картинах митоза, затрудняющих деление и могущих привести к гибели клетки на этой стадии. Наконец, если количество поглощенной энергии очень мало (одно-два попадания) и количество первоначально распавшихся колец тимина также незначительно, то деление проходит нормально, но вновь синтезируемая ДНК повторяет изъян в своем строении, что ведет к появлению мутации в потомстве (дефект в ДНК как матрице в последующем синтезе).

Приведенная схема, хотя и не строго доказана во всех звеньях, однако, хорошо согласуясь с имеющимися данными, может служить рабочей гипотезой для постановки дальнейших исследований.



## Влияние ионизирующей радиации на обмен нуклеиновых кислот

Синтез ДНК в клетке оказался одним из наиболее радиочувствительных процессов.

Классические исследования Хевеши впервые показали резкое угнетение синтеза ДНК. После тотального облучения дозами 1480—3000 *p* крысам сразу же вводился радиоактивный фосфат ( $P^{32}$ ). Через 2 часа животные забивались и определялась радиоактивность нуклеиновых кислот у облученных и контрольных животных [63, 64]. При этом были получены следующие данные (табл. 44).

Таблица 44

### Угнетение синтеза ДНК при облучении

Орган	Отношение вновь синтезированной ДНК в контроле к ДНК в облученном организме
Печень . . . . .	3,3
Селезенка . . . . .	2,4
Слизистая оболочка желудка . . .	2,3

В другом аналогичном опыте [64] на саркоматозных крысах определялась активность изолированной ДНК из саркомы и плазмы (табл. 45).

Таблица 45

### Угнетение синтеза ДНК при облучении

(удельная активность дезоксирибонуклеиновых кислот, % к удельной активности неорганического фосфора)

Условия опыта	Саркома	Плазма	Саркома	Плазма
			контроль облучение	
Контроль . . . . .	2,05	1,93	3,16	3,06
Облучение 2000 <i>p</i> . . . . .	0,65	0,63		
Контроль . . . . .	1,89	1,44	2,83	2,12
Облучение 1000 <i>p</i> . . . . .	0,67	0,68		

При дозе 1670 *p* удавалось уже через 15 мин. после облучения отметить снижение синтеза нуклеиновых кислот в печени на 50% по отношению к контролю.

Хевеши [65] констатировал замедление синтеза ДНК не только по уменьшению включения фосфора, но и путем изучения синтеза пуринов ДНК с использованием ацетата, меченого  $C^{14}$ . Крысам сразу после облучения дозой 950 *p* вводился меченый ацетат ( $CH_3C^{14}OONa$ ). Через 6 час. крысы забивались, и дезоксирибонуклеотиды отделялись от протеинов горячей



трихлоруксусной кислотой. После гидролиза ДНК были выделены пурины в виде серебряных солей.

Активность изолированных пуринов в облученных крысах была равна половине активности контроля. Скорость включения  $C^{14}$  в белки осталась при этом неизменной.

В наших совместно с Будиловой [66] исследованиях при изучении включения радиоактивного фосфора в нуклеопротейиды селезенки крыс под влиянием тотального рентгеновского облучения дозой 1000 p было показано, что угнетение синтеза постепенно возрастает; через 19—24 часа после облучения наблюдается резкое угнетение, достигающее 60—70% (рис. 76).

В ряде опытов, поставленных Будиловой, с облучением всего организма, но оперативно выведенной и тщательно заэкранированной селезенкой, а также при облучении только селезенки с защитой всего организма было показано, что примерно  $2/3$  наблюдаемого эффекта объясняются теми реакциями, которые происходят непосредственно в облучаемом органе, и только  $1/3$  вызывается более длительно живущими продуктами реакции переносимыми в изучаемый орган из облученного организма. В последнем случае существенным является облучение большой поверхности тела.

Дальнейшие исследования показали, что при облучении целых организмов резко угнетается включение аденина, гуанина и тимина в ДНК.

Так, при введении  $C^{14}$ -формиата в куриные эмбрионы сразу после облучения (400 p, 31 p в 1 мин.) и выделения ДНК, спустя 5 дней, можно было обнаружить снижение включения  $C^{14}$  в аденин, гуанин и тимин ДНК на 50%, по сравнению с контролем. Интересно, что синтез тех же оснований в РНК шел нормально [67].

Харрингтон и Левик [68] в опытах с зубной железой крыс показали, что даже малые дозы облучения (100 p) приводили к заметному угнетению включения фосфора в ДНК, оротовой кислоты в цитозин и тимин ДНК, муравьинокислого натрия в аденин и гуанин ДНК. Авторы отметили некоторое ускорение внедрения аденина в ДНК. Эти изменения наблюдались при введении меченых предшественников сразу после облучения и при исследовании через 24 часа после введения. После

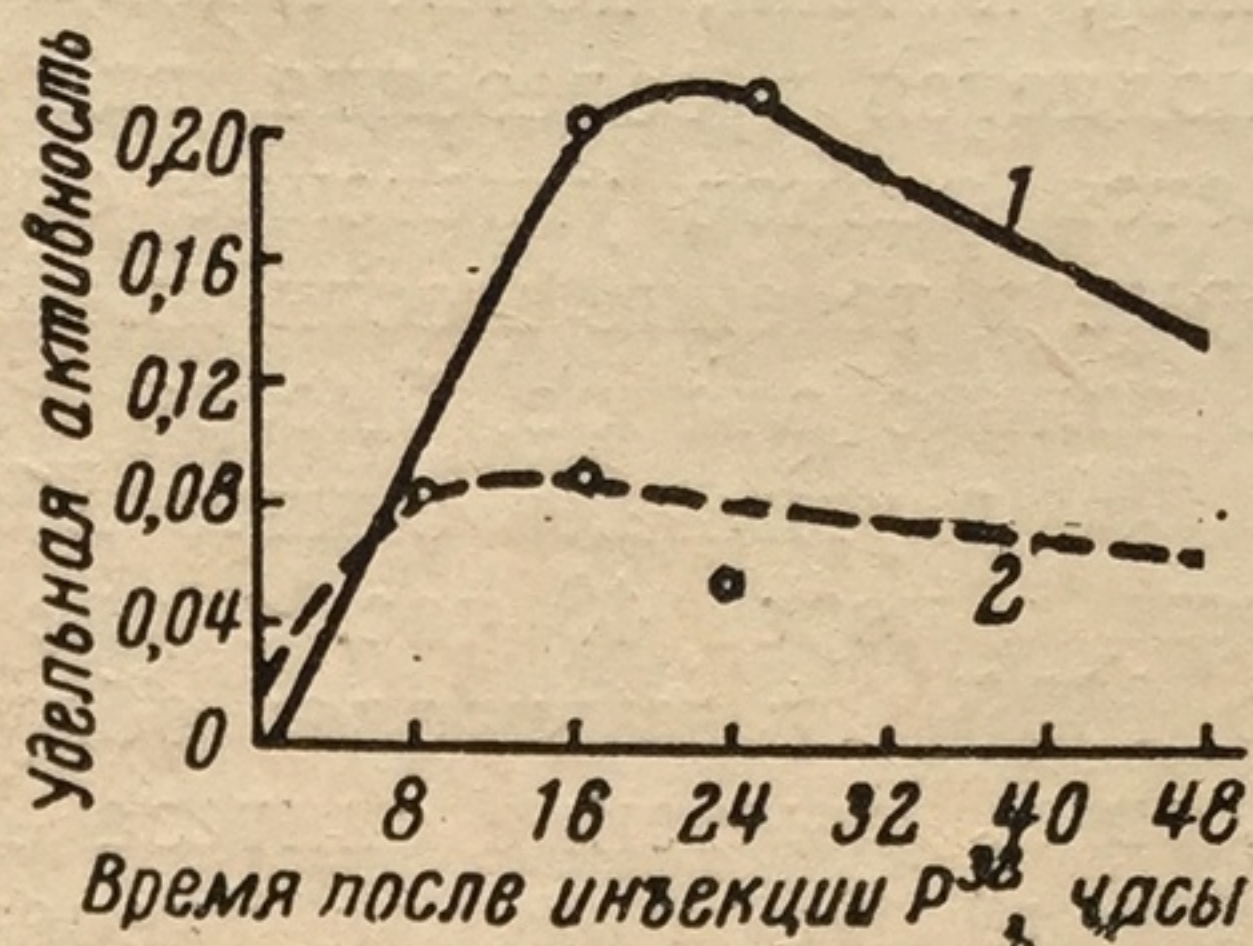


Рис. 76. Влияние тотального облучения на включение радиоактивного фосфора в белковую фракцию селезенки. (1) необлученные крысы, (2) облученные крысы.

Кривые построены по средним данным из 26 опытов. Радиоактивный фосфат вводился тотчас после облучения



облучения мышей дозами в 300, 550, 800 и 2500 p было найдено [69], что уже через два часа после облучения дозой в 800 p и выше снижается удельная активность ДНК тонкого кишечника, селезенки, печени, почек и легких. Наиболее резкое снижение наблюдается в селезенке, где уже после облучения 300 p наблюдается резкое угнетение синтеза ДНК, не возвращающееся к норме в течение шести дней; в кишечнике же эта доза вызывала только слабое, быстро восстанавливаемое подавление. Доза 800 p угнетала синтез ДНК в этих органах только в первые часы, а через 48 час. после облучения наблюдалась активация до 160% от контроля; облучение 2500 p вызывало прогрессирующее угнетение синтеза ДНК. В печени облученных мышей (600 p) [70] сначала (через 6 час.) наблюдалось небольшое падение уровня ДНК и РНК, через 12 час. уровень был выше контрольного, через 18 час. наступало опять падение ниже контроля и более сильное, чем в первый раз (особенно для ДНК), а через 48 час. содержание ДНК и РНК опять было значительно выше контрольного. В костном мозгу облученных кроликов (1000 p) наблюдалось [71, 72] снижение включения  $P^{32}$  в ДНК и РНК в одинаковой степени в первые часы после облучения. Восстановление синтеза РНК начинается раньше, чем синтеза ДНК. Через три дня удельная активность нуклеиновых кислот сильно превышает норму. Не исключено, что этот активный синтез приводит к образованию неполноценных нуклеиновых кислот, качественно не идентичных нуклеиновым кислотам костного мозга здоровых животных.

При летальных дозах облучения (1000 p для крыс) тотчас же (через 3 минуты после облучения) можно было наблюдать в тимусе угнетение синтеза ДНК на 50% [73]. Особенно отчетливо можно было наблюдать угнетение синтеза ДНК по включению тимидина, меченного тритием [74]. Угнетение обновления РНК также отчетливо выявляется уже через 2 часа после облучения (крысы 2000 p) с последующим снижением в селезенке, зобной железе, костном мозгу и слизистой кишечника. В печени же после кратковременного уменьшения начинается усиленное новообразование РНК, уже через 6 часов превышающее на 40% контрольные цифры [75].

Нарушение синтеза нуклеиновых кислот в растительном организме под влиянием радиации исследовалось Сисакином [76]. Автору удалось показать, что, так же как и в животном организме, уже через два часа после облучения дозами 5000—10 000 p нарушается синтез ДНК и это нарушение значительно возрастает через 24 часа.

При облучении корней *Vicia faba* через 12 часов после облучения (доза 140 p) синтез ДНК составляет 60% контроля [77, 78]. В период от 12 до 20 часов после облучения синтез очень понижается, затем через 1½—2 дня повышается и вновь падает

до миниму  
лучения си  
Интересно.  
(140 p) кл  
 $S^{35}$  происхо  
и Пелк [79]  
цессе мито  
сительных  
ведение вк  
отмечалось  
В то вр  
включения  
было показ  
Со<sup>60</sup> дозой  
Было п  
(1000 p) са  
жается цито  
объема клет  
На разли  
облученных  
облучение д  
ДНК на 63%  
Исследов  
пиримидино  
показало, чт  
блюдать уве  
печени и се  
[86]. Было п  
ряда предше  
цитидин-Н<sub>3</sub>  
жается, а Р  
различное по  
гие исследов  
тканях жив  
Нигард и П  
после введен  
ность ДНК  
ность X обще  
активности д  
77, 78 и 79.  
Мы набли  
орган в теч  
дованных ор  
зависит от ра  
зок времени,  
Подавлени  
менения удел



до минимума (10%) на 6—8-й день. На 9—10-й день после облучения синтез несколько повышается по сравнению с контролем. Интересно, что в то время как включение  $P^{32}$  в ядра облученных (140 p) клеток корней *Vicia faba* резко тормозится, включение  $S^{35}$  происходит так же, как и в контроле. По мнению Ховарда и Пелк [79], наблюдаемые после облучения нарушения в процессе митоза и строения хромосом связаны с изменением относительных скоростей синтеза ДНК и белка [80]. Различное поведение включения  $P^{32}$  и  $S^{35}$  в нуклеиновые кислоты и белки отмечалось также и при облучении саркомы крыс (2000 p) [81].

В то время как синтез ДНК резко угнетается, скорость включения  $P^{32}$  в цитоплазматическую РНК часто возрастает. Это было показано в опытах с печенью крыс, облученных  $\gamma$ -лучами  $Co^{60}$  дозой в 500 p [82] и с зубной железой мышей [83].

Было показано, что через 17—24 часа после облучения (1000 p) саркомы [84] тормозится деление клетки, но продолжается цитоплазматический рост, и параллельно с увеличением объема клетки увеличивается содержание РНК.

На различное подавление включения  $P^{32}$  в ДНК и РНК в облученных дрожжах указывает Мейсель [85]: в то время как облучение дрожжей в дозе 60 тыс. p снижает включение  $P^{32}$  в ДНК на 63%, включение в РНК снижается только на 27%.

Исследование включения в ДНК и РНК предшественника пиримидинов — урейдоантарной кислоты, меченной  $C^{14}$ , также показало, что при облучении мышей дозой в 400 p можно наблюдать увеличение включения урейдоантарной кислоты в РНК печени и селезенки наряду с подавлением включения в ДНК [86]. Было показано, что включение в ДНК лимфоцитов крыс ряда предшественников (формиат- $C^{14}$ , аденин- $C^{14}$ , тимидин- $H^3$ , цитидин- $H^3$  и  $NaHP^{32}O_4$ ) при облучении дозой в 2000 p снижается, а РНК синтезируется с нормальной скоростью [87]. На различное подавление синтеза РНК и ДНК указывают и другие исследования [88]. Угнетение синтеза ДНК в различных тканях животного организма (крыса) подробно исследовали Нигард и Поттер [89] по включению  $C^{14}$ -тимидина. Через час после введения предшественника определялась удельная активность ДНК и общая активность на орган (удельная активность  $\times$  общее количество ДНК в органе). Значения общей активности для различных органов представлены на рисунках 77, 78 и 79.

Мы наблюдаем резкое падение включения тимидина в целый орган в течение первых 8 час. после облучения во всех исследованных органах при всех дозах. Этот эффект, несомненно, зависит от распада и гибели клеток, проходящих за этот отрезок времени, и от истинного подавления синтеза.

Подавление биосинтеза ДНК хорошо видно из кривых изменения удельной активности ДНК, извлеченной в различные



промежутки времени после облучения (тимидин- $C^{14}$  вводился за час до выделения ДНК), представленных на рисунках 80, 81 и 82 [89—92].

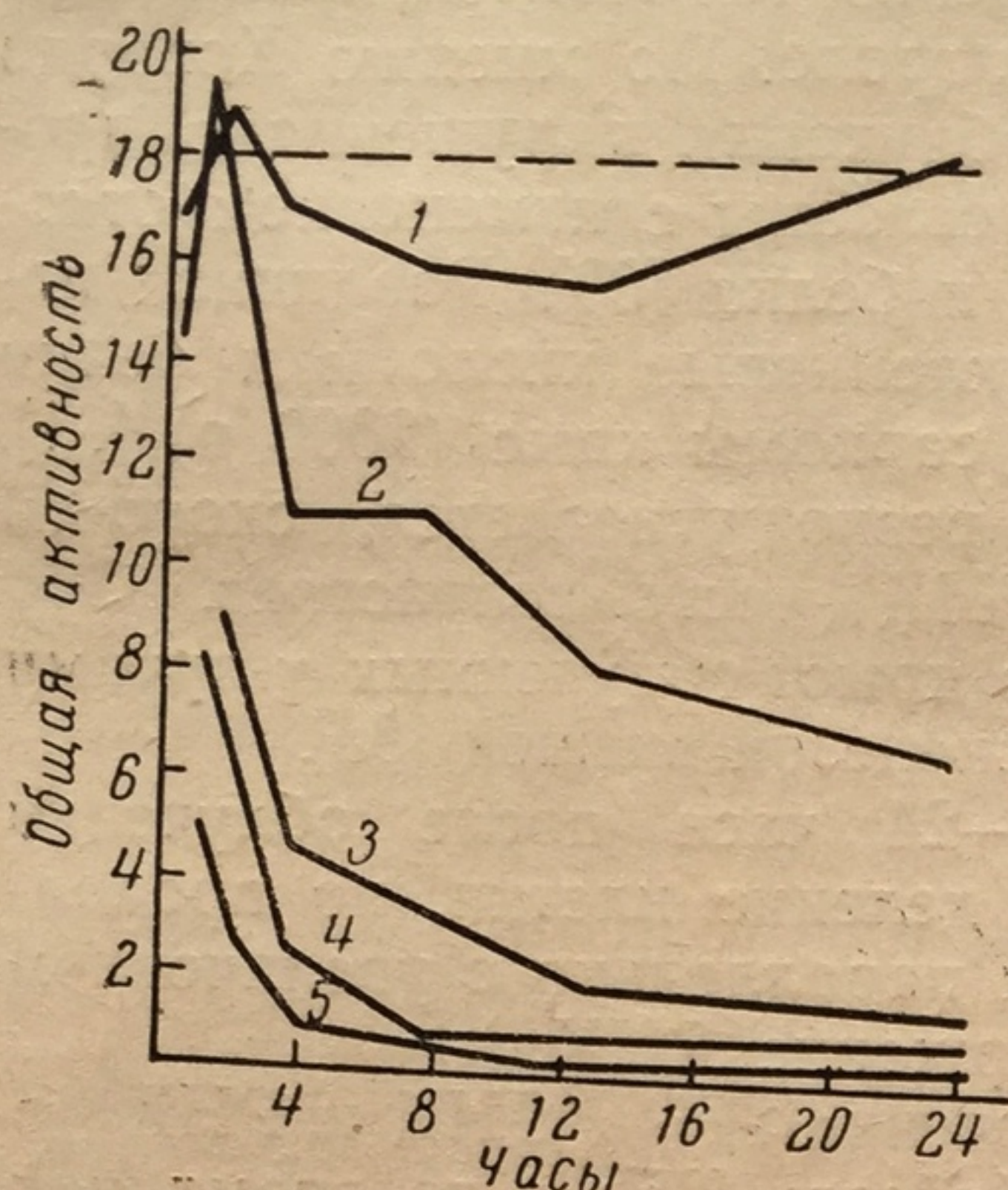


Рис. 77. Угнетение включения тимидина в тимус крыс в разные сроки после облучения

1 — облучение при дозе 50 p; 2 — 100 p; 3 — 200 p; 4 — 400 p; 5 — 800 p  
(На рис. 77—82 прерывистой линией обозначен контроль)

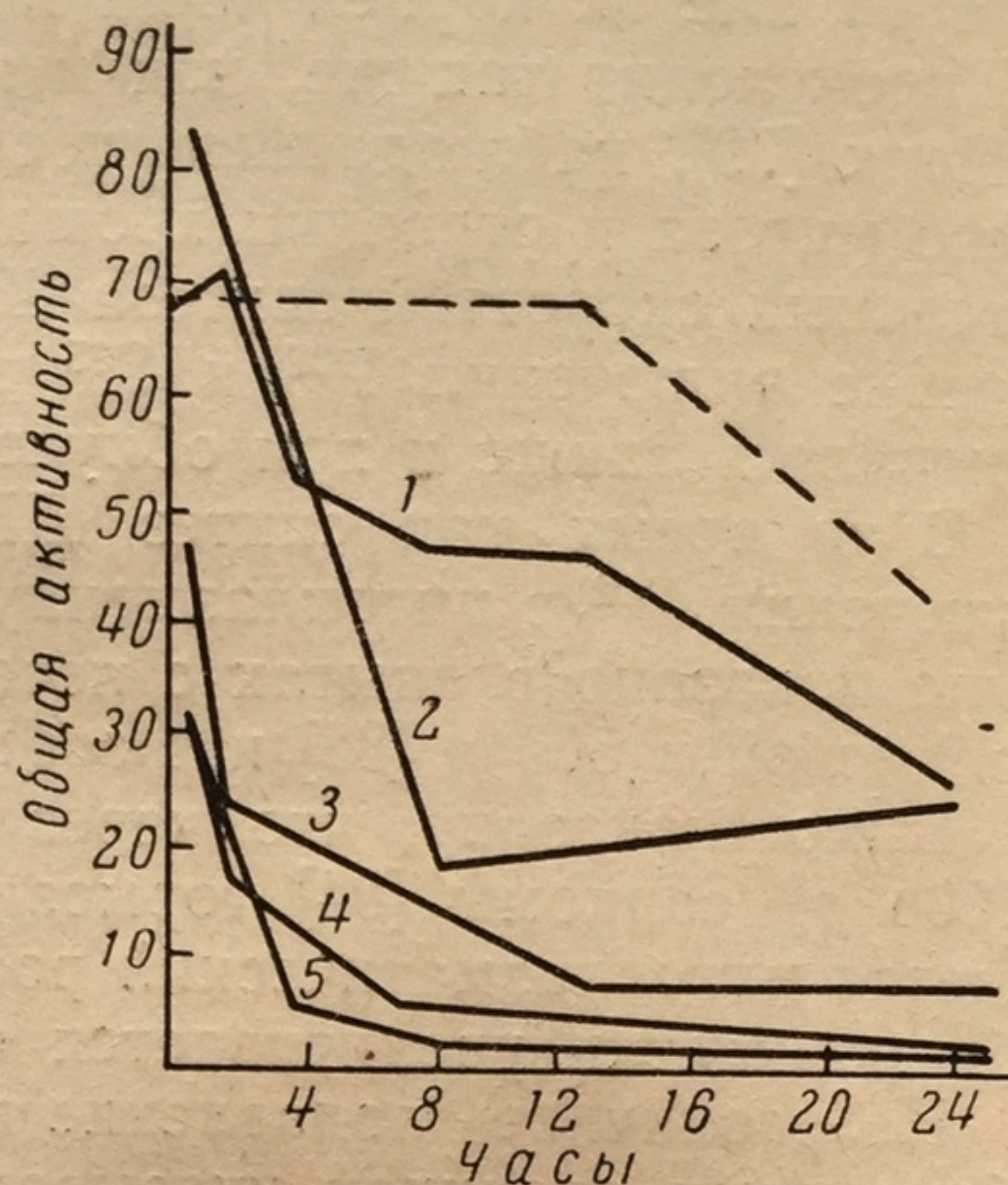


Рис. 78. Угнетение включения тимидина в селезенку крыс в разные сроки после облучения

1 — облучение при дозе 50 p; 2 — 100 p; 3 — 200 p; 4 — 400 p; 5 — 800 p

Из приведенных экспериментальных данных видно, что включение тимидина в ДНК подавляется уже при малых дозах (50 и 100 p); при 200 p во всех органах эффект становится заметным уже через 30 мин. после облучения и прогрессивно нарастает в течение 4—8 час. Это нарастание во времени наводит на мысль, что в результате облучения изменяются какие-то процессы обмена, и образующиеся метаболиты, накапливаясь в клетке, все более блокируют синтез ДНК. Говард и Пелк [80], Лайта с сотрудниками [93] и другие показали, что клетки, начавшие синтезировать ДНК к моменту облучения, продолжают синтез вне зависимости от облучения.

Если принять, что синтез длится около 8 час., то можно думать, что прогрессивное угнетение включения есть результат постепенного окончания синтеза в клетках, начавших его до облучения.

Следует подчеркнуть, что если при слабых дозах в 50—100 p наблюдается быстрое восстановление синтеза, в первые 24 часа после облучения, то дозы в 400—800 p за это время

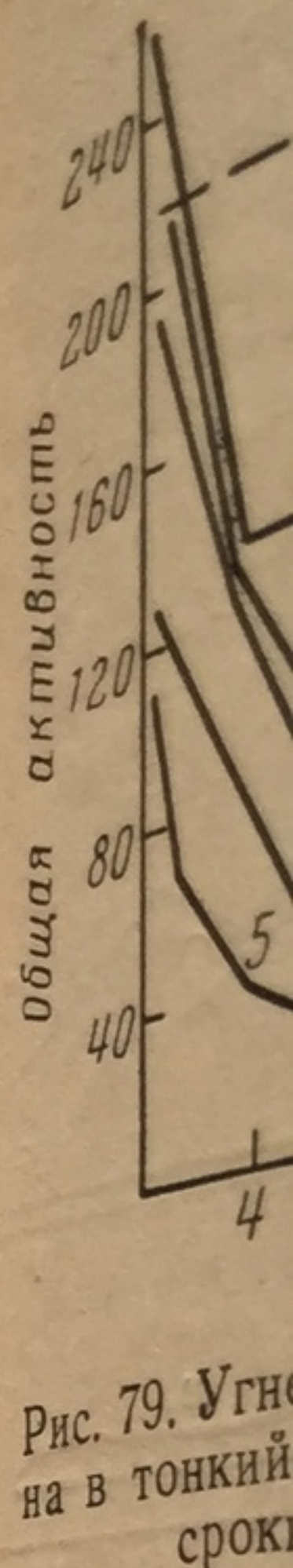


Рис. 79. Угнетение включения тимидина в тонкий слой в разные сроки после облучения

1 — облучение

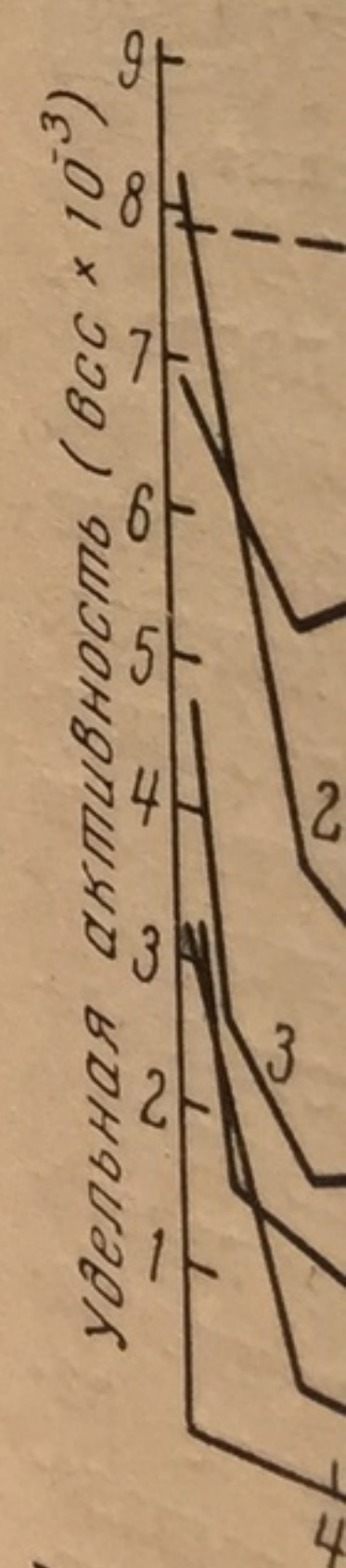


Рис. 81. Угнетение включения тимидина в ДНК в разные сроки после облучения

1 — облучение



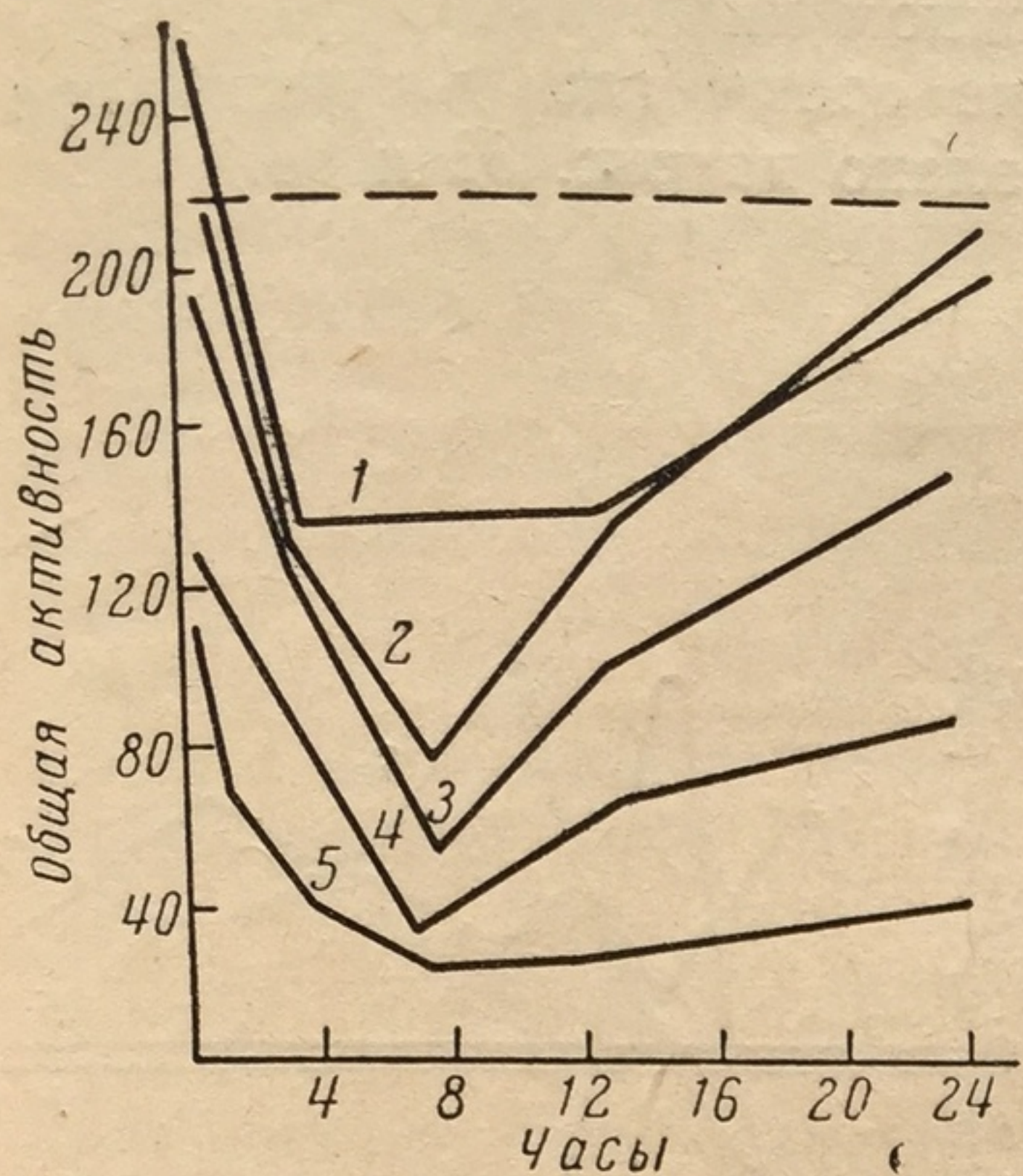


Рис. 79. Угнетение включения тимидина в тонкий кишечник крыс в разные сроки после облучения

1 — облучение 50 p; 2 — 100 p; 3 — 200 p; 4 — 400 p; 5 — 800 p

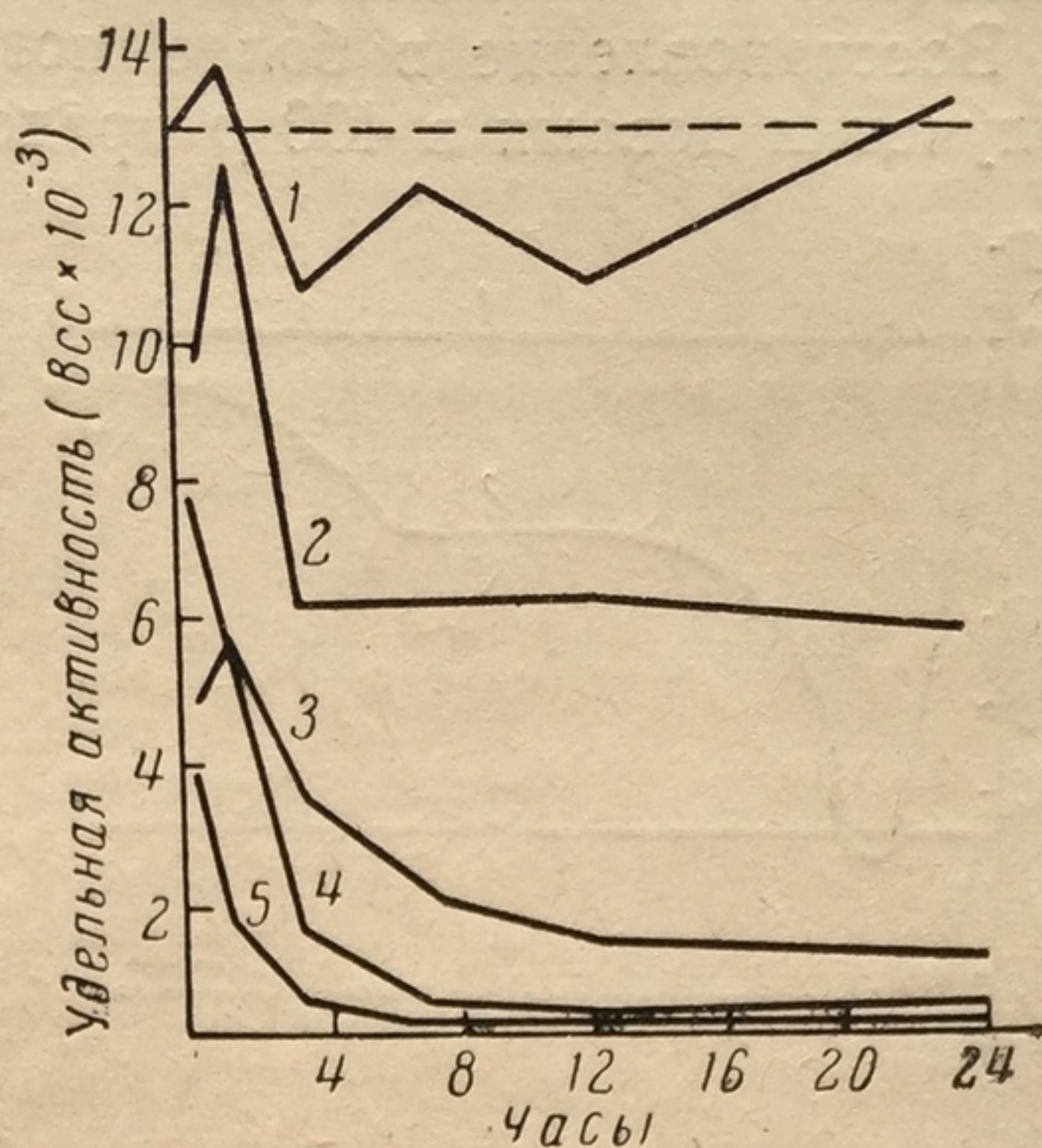


Рис. 80. Угнетение включения тимидина в ДНК тимуса крыс в разные сроки после облучения

1 — облучение 50 p; 2 — 100 p; 3 — 200 p; 4 — 400 p; 5 — 800 p,  $BVC = \frac{\text{имп/мМДНК}}{\text{имп/вес тела}}$

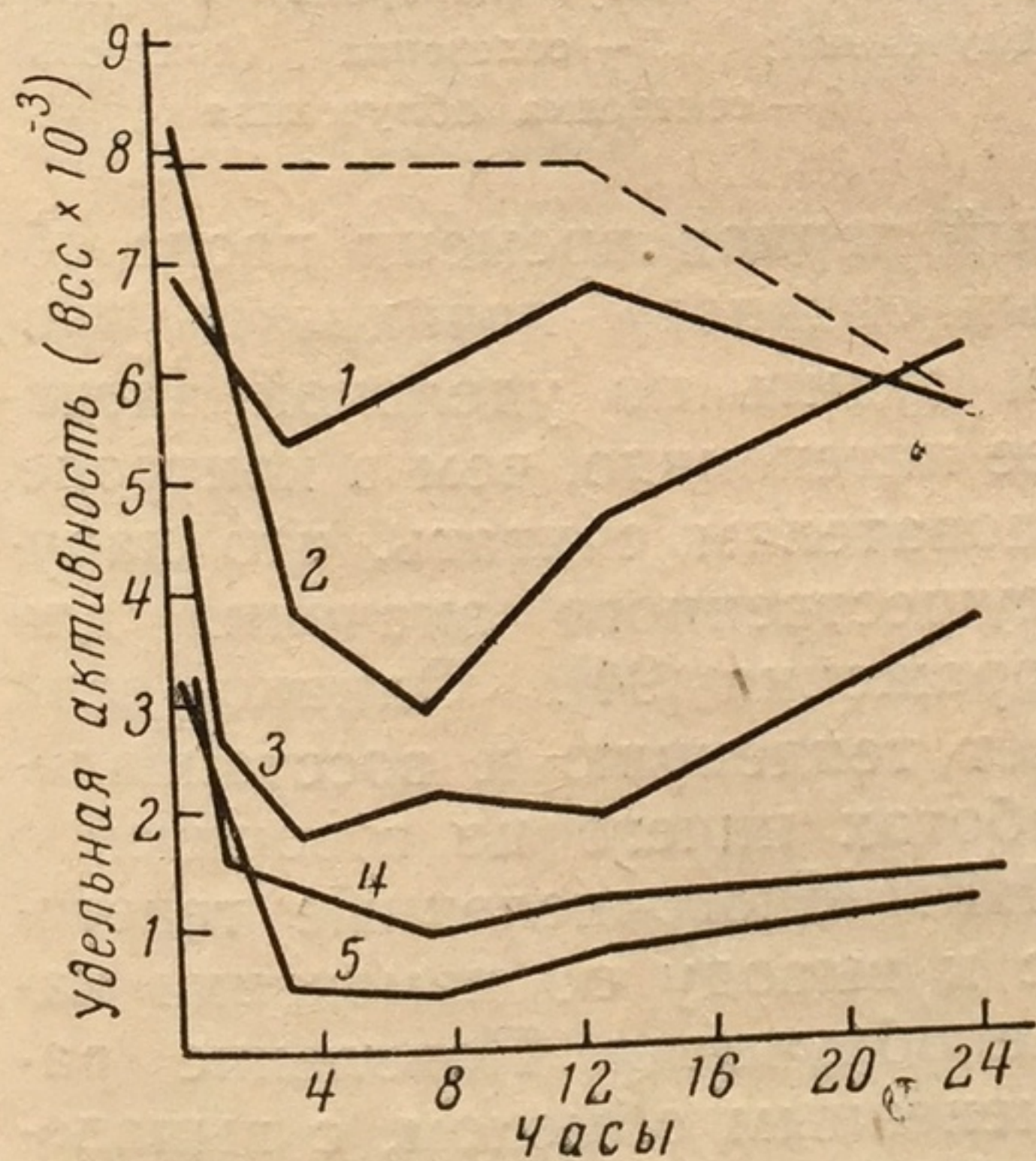


Рис. 81. Угнетение включения тимидина в ДНК селезенки крыс в разные сроки после облучения

1 — облучение 50 p; 2 — 100 p; 3 — 200 p; 4 — 400 p; 5 — 800 p

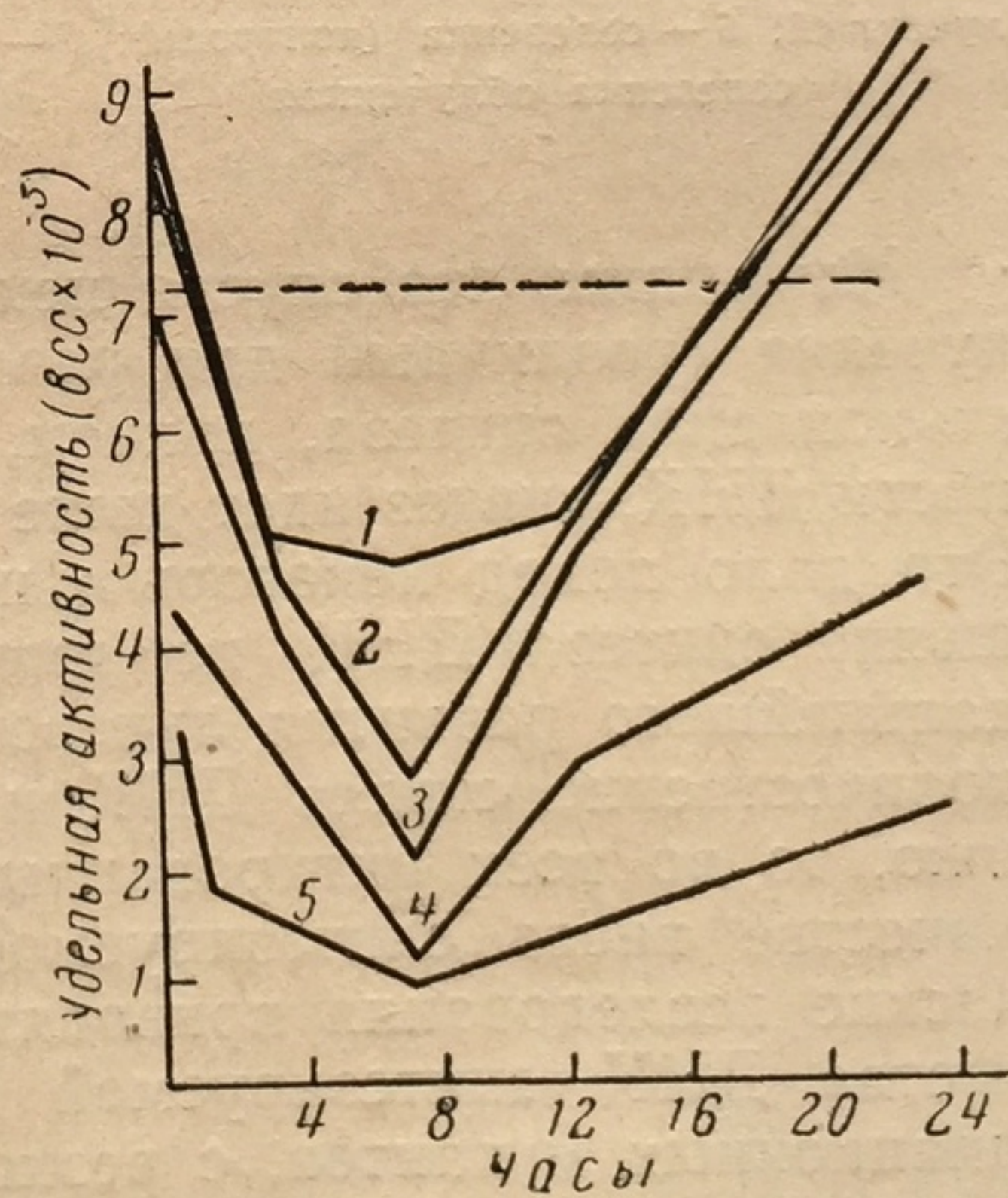


Рис. 82. Угнетение включения тимидина в ДНК тонкого кишечника крыс в разные сроки после облучения

1 — облучение 50 p; 2 — 100 p; 3 — 200 p; 4 — 400 p; 5 — 800 p



необратимо подавляют синтез в тимусе, почти полностью в селезенке и несколько меньше в тонком кишечнике.

Восстановление в более поздние сроки (до 12 дней) при облучении дозами в 400 р представлено на рис. 83 и 84.

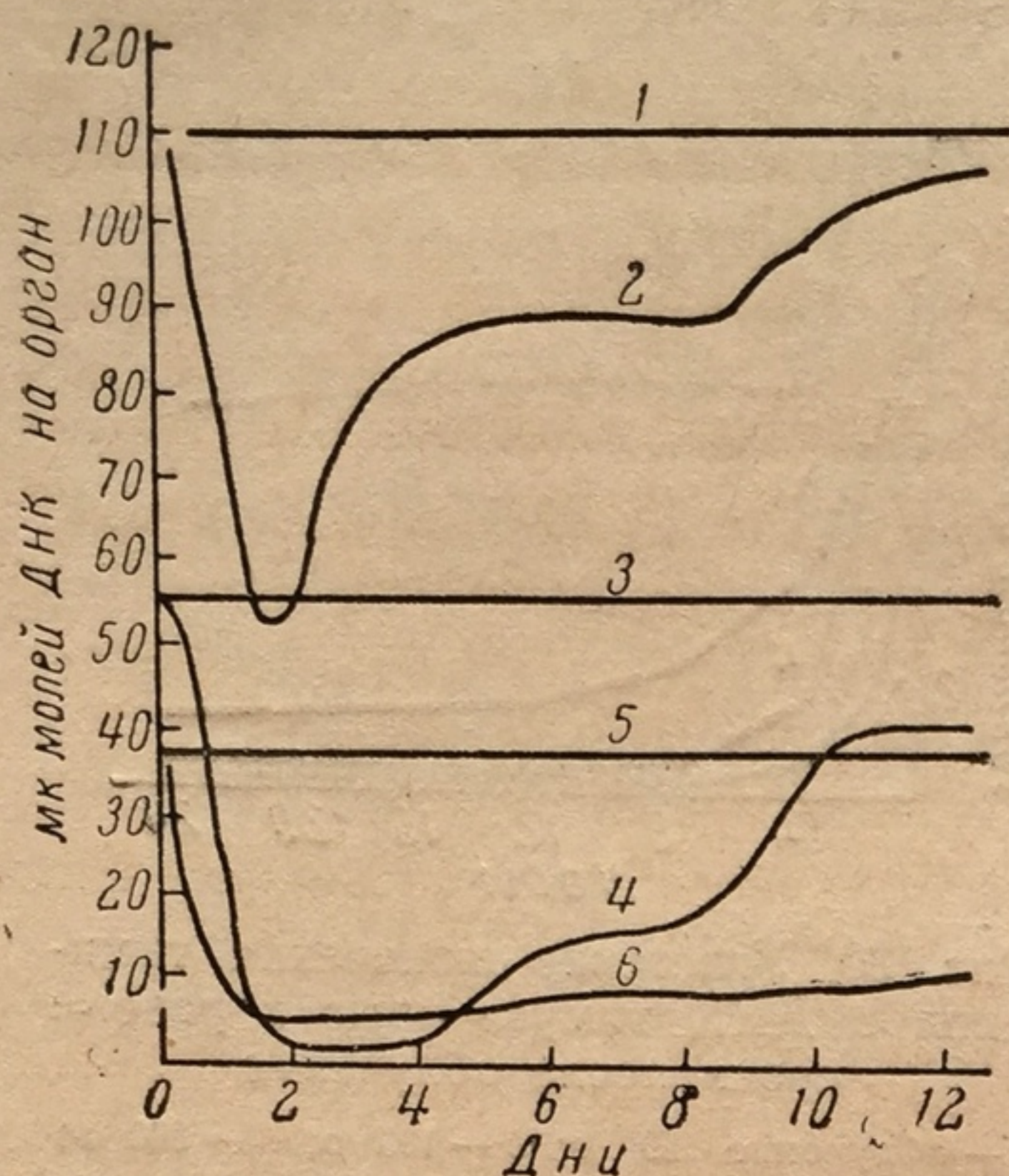


Рис. 83. Количество ДНК на орган в различное время после облучения 400 р

1 — кишечник (контроль); 2 — кишечник облученный; 3 — тимус (контроль); 4 — тимус облученный; 5 — селезенка (контроль); 6 — селезенка облученная

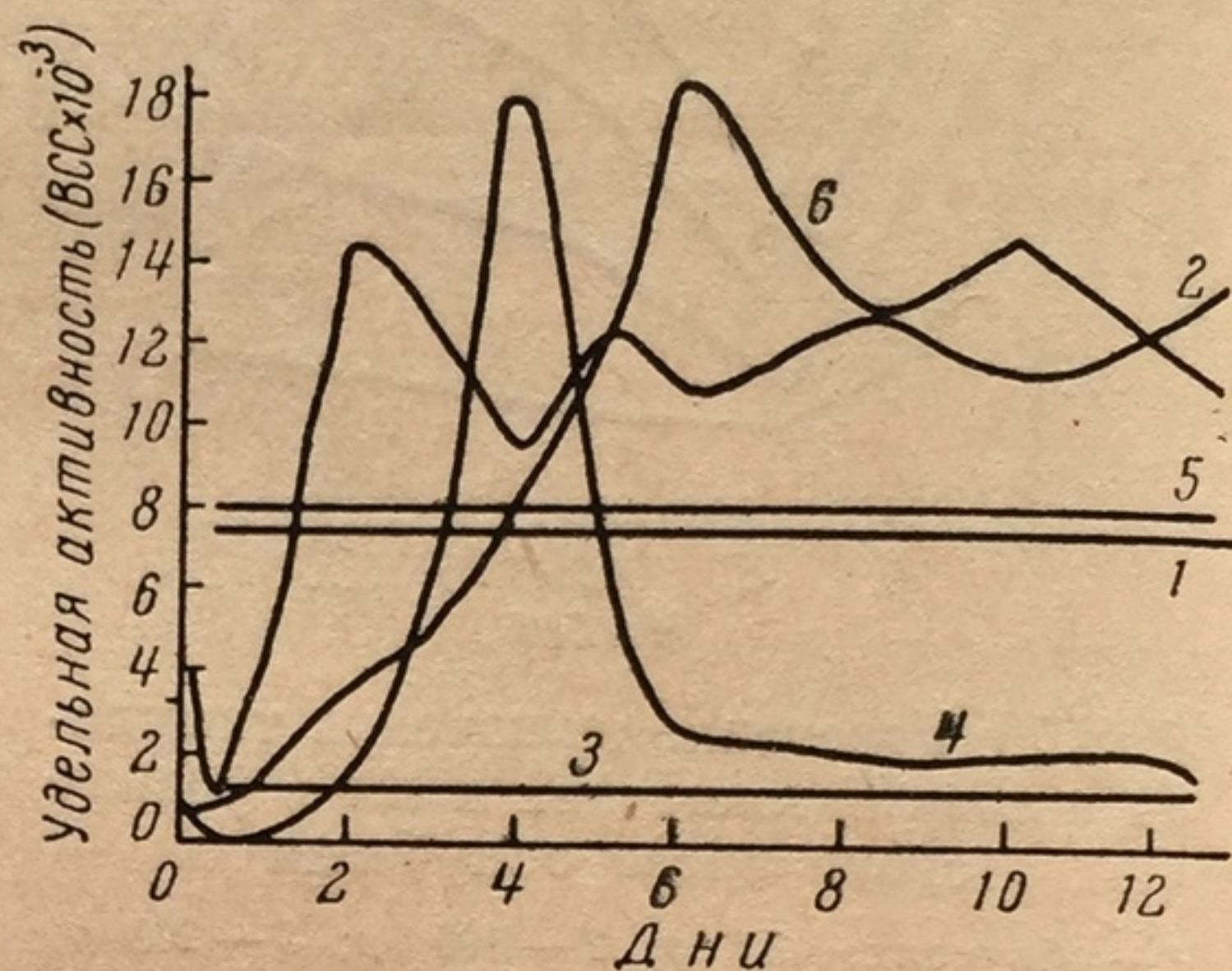


Рис. 84. Удельная активность ДНК в различное время после тотального облучения 400 р при введении тимидина-2-С<sup>14</sup>

1 — кишечник (контроль); 2 — кишечник облученный; 3 — тимус (контроль); 4 — тимус облученный; 5 — селезенка (контроль); 6 — селезенка облученная

Мы видим, что спустя некоторый период времени после облучения (различный для различных органов) начинается восстановление синтеза, причем, если судить по удельной активности ДНК, синтез идет даже более интенсивно, чем в контроле. Это дало повод некоторым исследователям считать, что нарушение синтеза ДНК не имеет существенного значения для дальнейшего развития лучевого поражения [94]. Однако если количественно синтез ДНК и имеет тенденцию к восстановлению, то во всех цитированных работах ничего не говорится о качестве вновь синтезируемой ДНК. Многочисленные генетические исследования приводят нас к выводу об изменении качества ДНК, синтезируемой после облучения. Появление радиационных мутантов, с резко измененным обменом, с выпадением отдельных ферментативных систем, делает весьма вероятным допущение об изменении качества ДНК, синтезируемой в облученном организме. Однако, помимо этих косвенных соображений, мы имеем и непосредственные наблюдения изменения состава ДНК в облученном организме. Так, Беренбаум и Пе-



терс [60], анализируя ДНК, изолированную из селезенки крыс спустя 2—7 дней после облучения животного дозой в 400 р, нашли, что облученная ДНК содержит меньше тимина, чем ДНК контрольных животных. Эти данные были подтверждены и в более поздних исследованиях этих авторов [95] и в других лабораториях [61].

Сисакян и Калачева при облучении проростков ржи (доза 10 000 р) наблюдали снижение содержания урацила в РНК, изолированной из облученных растений [76, 96]. Кузин и Токарская исследовали интенсивность включения различных оснований в РНК и ДНК растений после их облучения. Был использован метод тотальной метки  $C^{14}$  в процессе фотосинтеза, предложенный теми же авторами [97]. Было показано, что после облучения 10-дневных проростков кукурузы дозой в 10 000 р резко замедляется включение  $C^{14}$  в тимин ДНК и урацил РНК, при почти неизменном включении в пуриновые основания и в цитозин, что наглядно видно из хроматограмм, представленных на рис. 85 [98].

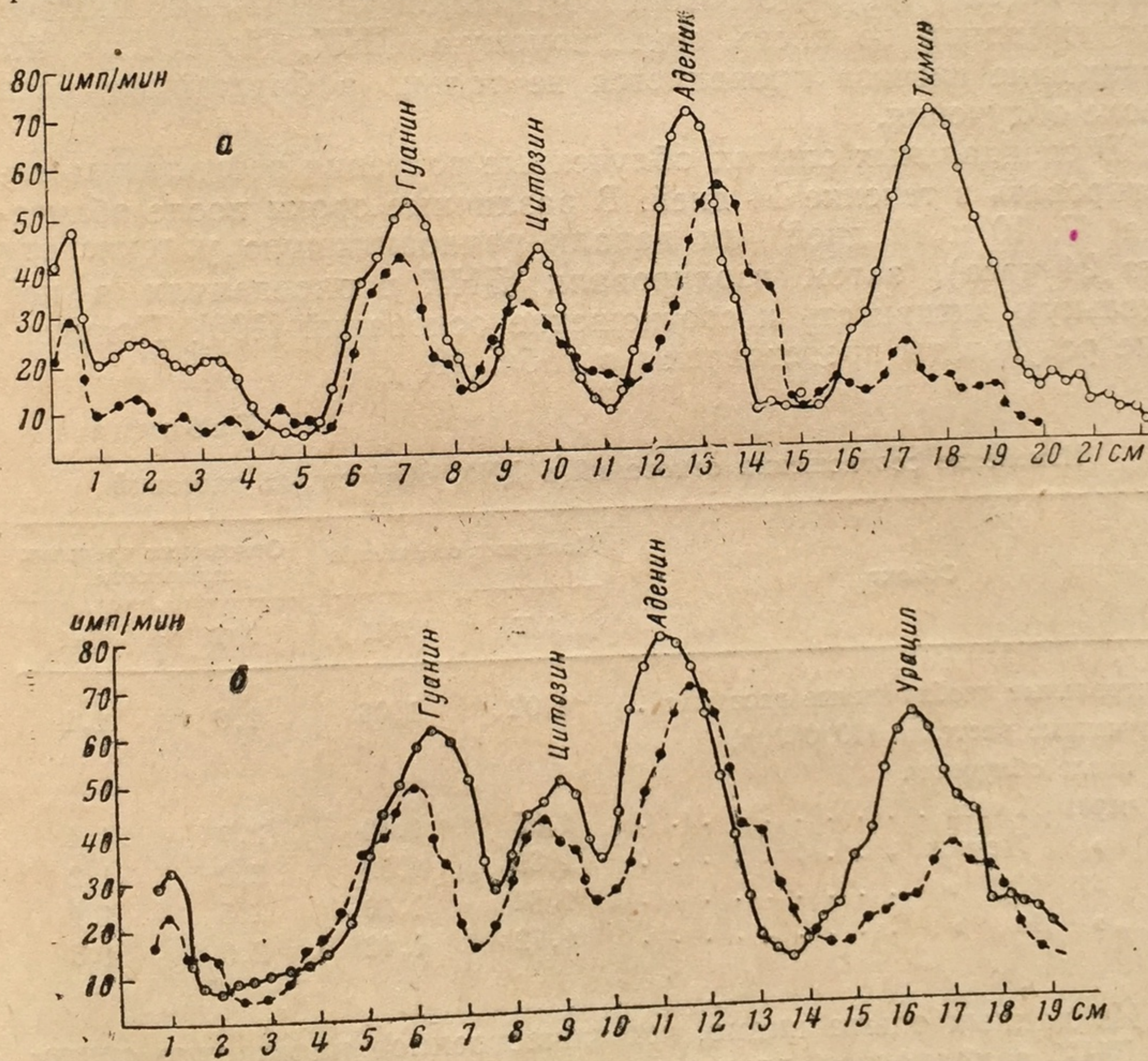


Рис. 85. Кривые активности хроматограмм пуриновых и пиримидиновых оснований ДНК (а) и РНК (б)  
 сплошные линии — контроль, прерывистые — опыт



Эти данные были тщательно проверены Токарской на другом виде растений — горохе — для выяснения изменений качества ДНК. Определялось соотношение оснований в изолированной ДНК до и после облучения и интенсивность включения  $C^{14}$  в отдельные основания. Были получены следующие результаты [99].

Объект	Молярные отношения		Отношения удельной активности	
	А/Т	Г/Ц	А/Т	Г/Ц
Контрольные необлученные растения .	1,00	1,04	1,05	1,13
Растения через 24 часа после облучения при дозе 10 000 p . . . . .	1,65	1,40	2,70	1,40

Мы видим, что в облученных растениях резко изменено отношение А/Т и особенно сильно сдвинуто отношение удельных активностей (А/Т), что говорит о сильном торможении включения тимидина во вновь синтезируемую ДНК. Интересно, что искажение синтеза проявляется не только в ближайшие часы после облучения.

В специальных опытах облученные растения оставлялись вегетировать в течение 14 дней. В различные сроки после облучения (7, 10 и 14 дней) им давали радиоактивную углекислоту (на 24 часа), затем изолировали ДНК и определяли в ней удельную активность и соотношение оснований [100]. Полученные результаты представлены в табл. 46.

Таблица 46  
Изменение соотношения оснований в ДНК облученных растений

Объект	Молярные отношения		Отношения удельных активностей	
	А/Т	Г/Ц	А/Т	Г/Ц
Контрольные необлученные растения .	1,02	1,06	1,0	1,1
Облученные растения (10 000 p) после облучения				
через 24 часа . . . . .	1,65	1,40	2,7	1,4
» 7 суток . . . . .	1,69	1,50	2,2	1,2
» 10 » . . . . .	1,62	1,49	2,5	1,1
» 14 » . . . . .	1,72	1,42	2,0	1,3

Из данных опыта видно, что качественное нарушение синтеза ДНК сохраняется длительное время в облученном организме, что, конечно, может играть решающую роль в проявлении



так называемых отдаленных последствий действия радиации. Что же является причиной пониженной удельной активности тимина и меньшего его содержания во вновь синтезируемой ДНК?

Согласно современным представлениям [101], включение меченой  $\text{CO}_2$  в пиримидиновые основания ДНК и РНК может быть представлено следующей схемой (рис. 86).

Как видно из этой схемы, 3-й углерод пиримидинового цикла образуется непосредственно из меченой углекислоты и должен иметь наибольшую активность. Углероды 1, 5 и 6-й образуются из аспарагиновой кислоты и поэтому они будут активны только после включения  $\text{CO}_2$  в процессе фотосинтеза в углеводы и последующего образования из них щавелевоуксусной и аспарагиновой кислот. Частично возможно непосредственное включение  $\text{CO}_2$  в цикл карбоновых кислот. Большое количество промежуточных продуктов, их постоянное присутствие в растительной ткани заставляют предположить, что углероды 1, 5 и 6-й будут менее активны, чем углерод 3. Наконец, третий путь передачи активности в метильную группу тимина представляет собой перенос одноуглеродного предшественника (вероятно, формиата) коферментной системой с участием фолиевой кислоты. Какая же стадия синтеза пиримидиновых нуклеотидов при включении их в нуклеиновые кислоты нарушается облучением?

Если бы радиация нарушала первоначальные стадии включения  $\text{C}^{14}$  в оротовую кислоту — этот общий предшественник всех пиримидиновых оснований, то активность снижалась бы равномерно у урацила и цитозина в РНК и у тимина и цитозина в ДНК, что не соответствует экспериментальным данным. Следовательно, как непосредственное включение  $\text{CO}_2$  в третье положение, так и фотосинтетическое включение  $\text{CO}_2$  через аспарагиновую кислоту не нарушается при облучении дозой в 10 000 р. Выводы в отношении фотосинтетического пути включения  $\text{C}^{14}\text{O}_2$  полностью согласуются с ранее опубликованными данными Кузина с сотрудниками [102] и Васильева [103]. Отчетливое различие в падении активности урацила и цитозина в РНК позволяет допустить, что под влиянием облучения нарушается скорость включения пиримидиновых оснований в молекулу трибонуклеиновой кислоты. Полученный результат может быть связан с угнетением фосфатазы уридиловой кислоты.

Особенно резко подавляется новообразование тимина в ДНК. Причину этого можно видеть либо в подавлении введения в молекулу тимина метильной группы, что могло бы быть связано с поражением коферментной системы с фолиевой кислотой, либо в резком торможении включения тимидина в молекулу ДНК. Для решения этого вопроса большой интерес







представляют данные по синтезу аденина и гуанина, входящих в ДНК. В образовании пуриновых оснований активное участие принимает коферментная система с фолиевой кислотой, доставляющая 2 и 7 углероды пуринового цикла. Если бы эта система угнеталась в результате облучения, то также резко должна была падать активность пуриновых оснований, чего на самом деле не происходит. Правда, следует иметь в виду, что угнетение этой системы может идти различно в цитоплазме, где в основном идет синтез пуриновых оснований, и в ядре, где образуется тимидин. Вероятно, что под влиянием радиации тормозится включение тимидина в молекулу ДНК.

Каназир и Эррера [104], исследуя блокирование синтеза ДНК под влиянием ультрафиолетового облучения, и Де-Никола [105] — под влиянием рентгеновского облучения, также приходят к выводу о том, что синтез нуклеиновых кислот подавляется на стадии образования высокополимерных соединений, а не их промежуточных продуктов.

Торможение включения тимидина может зависеть от нескольких причин. Во-первых, может быть заторможено фосфорилирование тимидина и снижено образование тимидинтрифосфата. Полифосфаты пуринсодержащих нуклеотидов образуются в цитоплазме и поступают в ядро уже в готовом виде, синтез же полифосфата тимидина идет в самом ядре. Синтез полифосфата тимидина непосредственно связан с процессом окислительного фосфорилирования в ядре.

Следовательно, можно предполагать, что нарушение включения тимидина в ДНК непосредственно связано с угнетением окислительного фосфорилирования в ядре, что будет нами подробно рассмотрено ниже.

Другая причина уменьшения содержания тимина в ДНК может заключаться в изменении активности ферментов, катализирующих включение полифосфорнокислого эфира тимина в ДНК [59].

И, наконец, можно предположить, что под влиянием больших доз облучения (10 000 p) изменяется ДНК-матрица, что ведет к торможению включения тимина. Для проверки этого предположения Токарская облучала покоящиеся семена гороха и затем определяла соотношение оснований в ДНК зародышей непосредственно после облучения и спустя 24 часа намачивания. При этом были получены следующие результаты [59].

Объект	Соотношение оснований в ДНК, изолированной из зародышей	
	А/Т	Г/Ц
Сухие семена, контроль . . . . .	1,00	1,01
Сухие семена сразу после облучения 10 000 p .	1,02	1,10
Через 24 часа намачивания при 25° . . . . .	1,69	1,45



Из этих данных мы видим, что если непосредственно под влиянием облучения не происходит снижения содержания тимина в ДНК, то в процессе намачивания, когда наступают обменные процессы, скрытые повреждения, нанесенные радиацией, проявляются в значительном разрушении колец тимина.

Связано ли это разрушение колец тимина с последующим угнетением его включения в молекулу ДНК — еще не ясно. Согласно существующим представлениям о комплементарном синтезе ДНК, казалось бы, что уменьшение содержания тимина в матрице должно было бы вести к снижению включения аденина, в то время как экспериментальные данные показывают снижение включения тимина. В этом же направлении были проделаны модельные опыты Окада [106]. Окада проводил синтез ДНК *in vitro* с изолированной ферментной системой и с фосфорилированными нуклеотидами. Облучая ДНК, вносимую в систему в качестве «затравки», и наблюдая за включением меченых тимидина и цитидиловой кислоты, он показал, что при облучении дозой в 20 000 *p* наблюдается угнетение включения тимина при активации включения цитозина. Эти модельные эксперименты говорят о том, что облучение «матрицы» ДНК сказывается в первую очередь на подавлении включения тимидина, что несколько перекликается с нашими наблюдениями на растениях. Все эти эксперименты не исключают влияния измененной ДНК на включение тимидина. Изменение ДНК может произойти и в результате вторичных реакций. Ниже мы подробно рассмотрим появление в облученных растительных тканях «антимитотиков», блокирующих синтез ДНК. Если допустить, что это блокирование идет по аминным группам аденина, то по закону комплементарности должно произойти уменьшение включения тимина, что и наблюдается на опыте.

На иной состав ДНК, синтезируемой после облучения, указывает также неодинаковое угнетение включения различных предшественников. Так, например, при облучении куриных эмбрионов (5000 *p*) значительно снижается включение формиата- $C^{14}$  в ДНК, который, как известно, в значительной мере идет в тимидин и совершенно не изменяется включение аденина 8- $C^{14}$  [107]. Это, вероятно, связано и с торможением синтеза тимидилата из дезоксиуридилата, потребляющего формиат при участии тетрагидрофолиевой кислоты. Значение этого пути образования тимидина в ядрах было недавно показано в модельных опытах [108]. О том, что нарушение включения тимидина в ДНК в животном организме, при небольших дозах облучения, тесно связано с синтезом, новообразованием ДНК было продемонстрировано Какулия [109] в экспериментах по изучению состава ДНК, извлеченной из мозга кроликов. При облучении в постнатальный период, когда новообразование ДНК в головном мозгу уже не происходит, изменения в соотношении нуклеотидов также не на-



блюдалось. Когда автор облучал животных в эмбриональный период (400 p), а затем исследовал ДНК у родившихся животных, то получалось уменьшение тимина на 16 молекулярных процентов.

Синтез ДНК в ядре клетки теснейшим образом связан с процессами обмена всей клетки в целом. Для выяснения этих взаимосвязей большой интерес представляют исследования синтеза ДНК в изолированных ядрах.

Логан, Эррера и Фик [110] работали с изолированными ядрами тимуса крыс и, применив радиоавтографический метод, показали, что под влиянием облучения в изолированных ядрах наблюдается снижение включения таких предшественников ДНК и РНК, как оротовая кислота, аденин, урацил и тимидин. Однако попытки обнаружить подавление включения в изолированную из ядер ДНК не дали отчетливых результатов [111]. Между тем, в ряде работ ядра инкубировались с мечеными предшественниками, затем изолировались ДНК и РНК и было отчетливо показано, что изолированные ядра способны осуществлять истинное включение в нуклеиновые кислоты аденозина- $C^{14}$ , оротовой кислоты- $C^{14}$  [112], а также формиата [113]. У нас в лаборатории Будилова [114] выяснила, что при инкубации изолированных ядер тимуса с формиатом- $C^{14}$  последний мог быть обнаружен только в тимине ДНК. Следовательно, в ядрах идет реакция метилирования уридиновой кислоты с образованием тимидина и включением последнего в ДНК. Аденозин- $C^{14}$  в этих опытах обнаруживался только в аденозине ДНК. Было изучено влияние облучения на эти процессы [115]. При этом нас интересовали два вопроса. Действительно ли угнетение синтеза ДНК в ядре вызывается непосредственным облучением ядра или оно является следствием нарушения обменных процессов в организме. Для решения этого вопроса мы сравнивали влияние облучения на изолированные переживающие ядра и на целый организм.

Второй вопрос — одинаково ли угнетается при адекватных условиях облучения включение пиримидиновых и пуриновых оснований в ДНК.

В результате многократных экспериментов был получен следующий суммарный результат: при облучении целого животного (1000 p) с последующим немедленным извлечением тимуса, изолированием ядер и их инкубацией с формиатом- $C^{14}$  и аденином- $C^{14}$  наблюдалось резкое угнетение включения этих предшественников. При этих условиях включение формиата в тимин тормозилось, по сравнению с контролем, на 70—75%, а аденина в аденин ДНК — на 43%. Здесь интересно подчеркнуть, что торможение включения аденина было почти в два раза меньше, чем торможение новообразования тимина. Однако, когда мы облучали той же дозой (1000 p) изолированные ядра и затем проводили эксперимент по обычной схеме, то включение аденина шло



с той же интенсивностью, что и в контроле, а новообразование тимина угнеталось всего лишь на 29%. Полученные результаты, несомненно, указывают на то, что угнетение синтеза ДНК в ядре в основном зависит от нарушения обменных процессов в цитоплазме или же нейрогуморальных воздействий со стороны целого организма.

Интерфаза		Митоз			
		Про-фаза	Мета-фаза	Тело-фаза	
	Синтез ДНК				
Синтез РНК и синтез белков					
Приток в ядро предшественников ДНК Синтез предшественников приток и синтез макроэргов					
	Образование полифосфатов нуклеотидов				
	Образование односпиральной ДНК матрицы				

Рис. 87. Схема биохимических процессов, связанных с синтезом ДНК в жизненном цикле клетки

Интересно, что в опытах с облучением изолированных ядер мы могли наблюдать различное угнетение включения пиримидиновых и пуриновых оснований, что еще раз подтверждает наши данные об образовании качественно иной ДНК в облученном организме.

Синтез ДНК теснейшим образом связан с процессом деления клетки. Последовательность биохимических процессов в жизненном цикле клетки, связанных с синтезом ДНК, схематически изображена на рис. 87.

Как показали исследования Говарда и Пелка [78, 80], Келли [117], Холмс [118, 119] и Лайта с сотрудниками [93], на растительных клетках (корешки бобов), клетках регенерирующей печени и костного мозга наиболее радиочувствительной фазой является период интерфазы, предшествующий началу синтеза ДНК. В этот период облучение в дозах 200—300 р вызывает угнетение синтеза ДНК на 35—45%.

Интересно отметить, что при дальнейшем повышении дозы облучения до 750 р синтез угнетается лишь до 50%.

В период начавшегося синтеза дозы до 300 р уже не оказывают видимого влияния. Доза в 750 р угнетает синтез лишь на



с той же интенсивностью, что и в контроле, а новообразование тимина угнеталось всего лишь на 29%. Полученные результаты, несомненно, указывают на то, что угнетение синтеза ДНК в ядре в основном зависит от нарушения обменных процессов в цитоплазме или же нейрогуморальных воздействий со стороны целого организма.

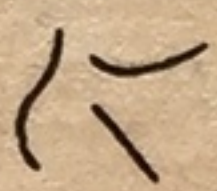
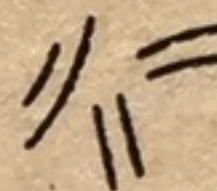
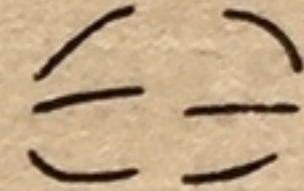

Интерфаза			Митоз			
			Про-фаза	Мета-фаза	Тело-фаза	
						
Синтез ДНК						
Синтез РНК и синтез белков						
Приток в ядро предшественников ДНК Синтез предшественников приток и синтез макроэргов						
Образование полифосфатов нуклеотидов						
Образование односпиральной ДНК матрицы						

Рис. 87. Схема биохимических процессов, связанных с синтезом ДНК в жизненном цикле клетки

Интересно, что в опытах с облучением изолированных ядер мы могли наблюдать различное угнетение включения пиримидиновых и пуриновых оснований, что еще раз подтверждает наши данные об образовании качественно иной ДНК в облученном организме.

Синтез ДНК теснейшим образом связан с процессом деления клетки. Последовательность биохимических процессов в жизненном цикле клетки, связанных с синтезом ДНК, схематически изображена на рис. 87.



30—35% [93]. Для клеток регенерирующей печени было показано, что доза в 450 *p* подавляет синтез ДНК, если облучение происходит в период, предшествующий интенсивному синтезу ДНК. Если же синтез уже начался, то для его подавления на 50% требовались дозы порядка 2000 *p* [118]. Бельтц и др. [118a], наблюдая включение оротовой кислоты в ДНК регенерирующей печени, также нашли, что тотальное облучение животного перед интенсивным синтезом дозой в 1500 *p* блокирует включение оротовой кислоты в ДНК и почти не оказывает влияния в период интенсивного синтеза.

Говард, обсуждая возможные связи между угнетением синтеза ДНК и подавлением митозов, справедливо указывает, что митоз более радиочувствительный процесс, чем синтез ДНК [90]. Задержка митоза уже наблюдается при дозах порядка 4—50 *p*. Наиболее радиочувствительной оказывается стадия ранней профазы, когда синтез ДНК уже закончен. В ряде исследований на культуре тканей было показано [91, 92, 120, 121], что облучение вызывает полную остановку деления клеток, в то время как синтез ДНК, РНК и белков продолжает идти, что приводит к образованию гигантских клеток с удвоенным содержанием ДНК. Аналогичные наблюдения были сделаны и с клетками асцитной карциномы Эрлиха [122].

Используя тимидин-Н<sup>3</sup> с большой удельной активностью, Пейнтеру и Робертсону [123] удалось проследить за синтезом ДНК в короткие промежутки времени и обнаружить на культуре клеток HeLaS·3, что при умеренных дозах (500 *p*) в первые часы после облучения наблюдается усиление включения тимидина, как это видно из данных, представленных на рис. 88.

Это усиление в первые часы является следствием более длительного периода синтеза ДНК в клетках, облученных в момент интенсивного синтеза ДНК. Нарушается механизм, приостанавливающий синтез после удвоения ДНК, что приводит к гигантским клеткам, появление которых отмечалось многими авторами.

Из данных рис. 88 видно, что деление клеток, облученных (500 *p*) в стадии поздней интерфазы, не задерживается этой дозой. Падение кривой через 16—20 час. после облучения выявляет

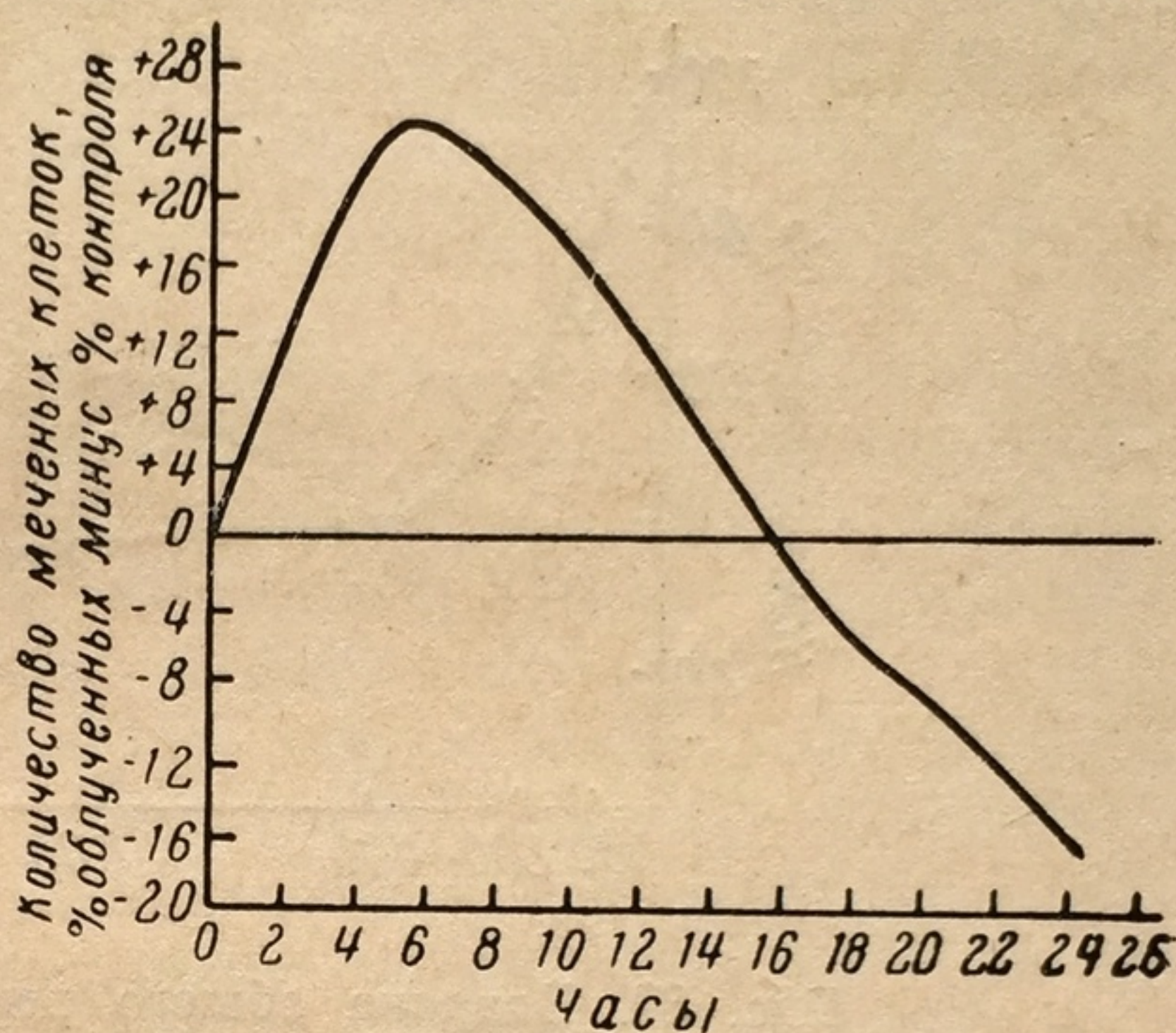


Рис. 88. Поглощение тимидина Н<sup>3</sup> ядрами облученных клеток HeLaS·3



поражение в стадии ранней и средней интерфазы. Эти факты говорят о том, что задержка синтеза ДНК не является единственной причиной подавления митоза, хотя, несомненно, клетки, облученные в ранней интерфазе, не могут вступить в митоз в силу заторможенного синтеза ДНК. Следует особо подчеркнуть, что для угнетения синтеза ДНК необходимо облучение клеток до начала синтеза. Создается впечатление, что после облучения в клетке должны пройти какие-то процессы, в результате которых наступит подавление синтеза ДНК.

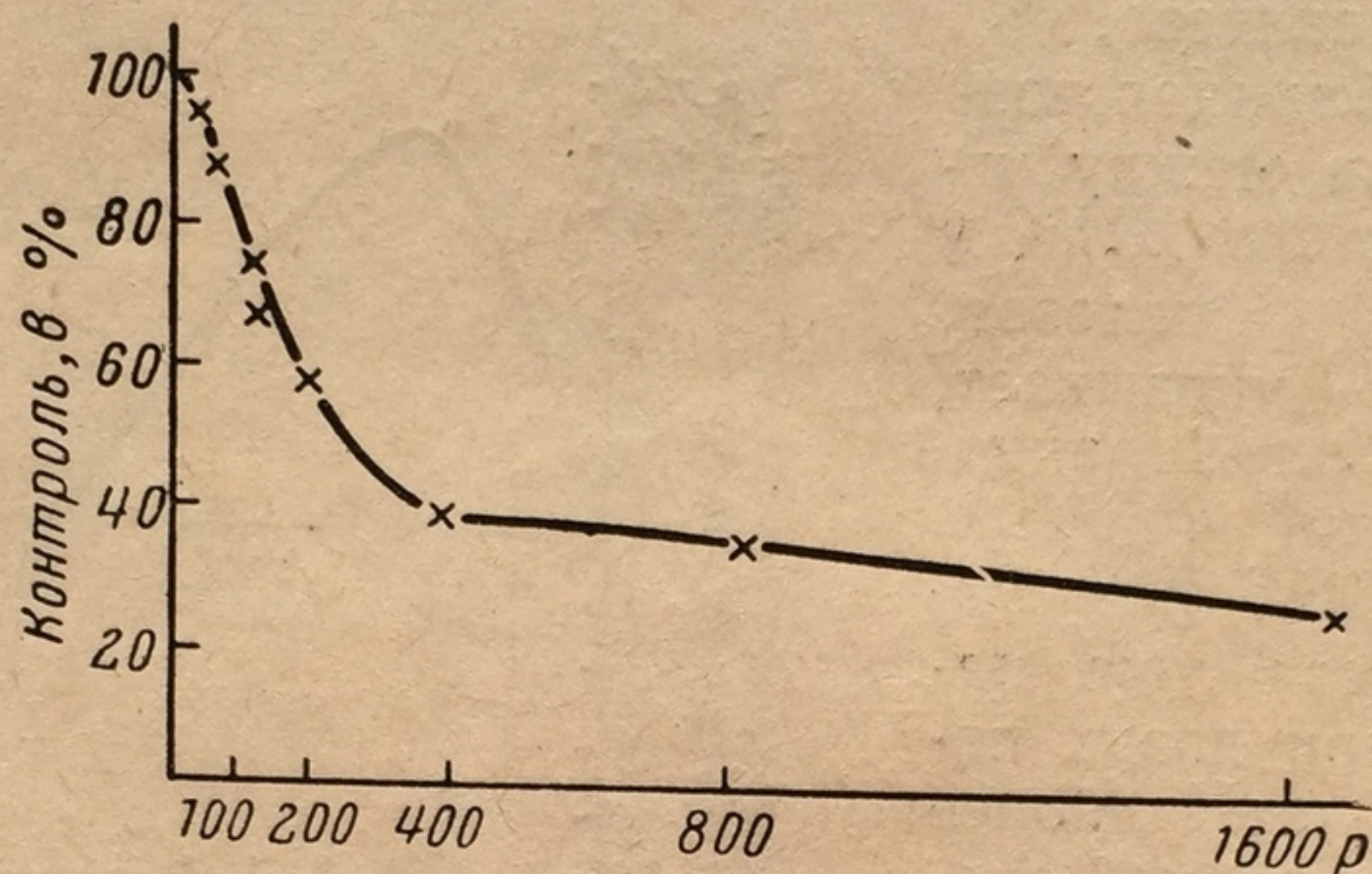


Рис. 89. Влияние общего рентгеновского облучения на включение  $P^{32}$  в ДНК тимуса крыс спустя 2 часа после облучения

Таковыми «пусковыми» процессами могут быть:

- изменение отношения  $K/Na$  в ядре клетки;
- угнетение окислительного фосфорилирования в ядре (см. главу 1);
- появление «антимитотиков», вследствие нарушения ферментативных процессов в цитоплазме, блокирующих ДНК (см. главу 7).

Как показали исследования Криси [124], ядра радиочувствительных клеток быстро теряют ионы  $K$  и  $Na$ . В опытах с изолированными ядрами селезенки было показано, что уже при дозах в 100 р ядра теряли 60—90% ионов калия и натрия. Потеря калия, по-видимому, непосредственно связана с угнетением окислительного фосфорилирования в ядрах [125], которое, в свою очередь, может влиять на синтез ДНК. С другой стороны, в опытах *in vitro* по синтезу ДНК в ядрах было показано непосредственное угнетение синтеза ДНК свободными ионами  $Na$  [126].

Вероятно, нарушение синтеза ДНК под влиянием облучения может быть следствием не одной, а нескольких причин. Штокен приводит следующую кривую зависимости включения  $P^{32}$  в ДНК тимуса от дозы облучения [127] (рис. 89), предполагая, что пер-



вая ветвь кривой отражает блокирование окислительного фосфорилирования в ядре, в то время как вторая ветвь может быть связана с нарушением митохондриальной активности и изменением ДНК как матрицы.

Обмен рибонуклеиновой кислоты в облученных клетках, как уже частично отмечалось выше, также претерпевает значительные изменения.

Чейка и Носек [128] исследовали содержание рибонуклеиновой кислоты в селезенке и печени кроликов, облученных в дозе 600 p при общем облучении и при защите органа свинцовой пластинкой. Полученные ими данные представлены на рис. 90. При резком снижении РНК в селезенке (на 1 g сухого вещества) в печени наблюдается отчетливое и достоверное повышение содержания РНК.

Интересно, отметить, что при защите органа наблюдается незначительное изменение, что указывает на влияние нейрогуморального фактора и в первую очередь образующихся токсических веществ на нарушения нуклеинового обмена. Роль нейрогуморального фактора в обмене нуклеиновых кислот подтверждают эксперименты с облучением головы животных, которые

показали, что при определенных дозах наблюдаются изменения нуклеинового обмена во внутренних органах [129].

Интересные результаты были получены и при исследовании распада ДНК в облученных тканях. Для этой цели Нигард и Поттер [130] метили ДНК тканей тимидином-2- $C^{14}$  и после его включения животные облучались (100 и 400 p). Падение суммарной активности, показанное на рис. 91, соответствовало наблюдаемому уменьшению содержания ДНК и, по-видимому, отражало гибель и удаление клеток из органа. Неожиданными оказались кривые падения удельной активности ДНК.

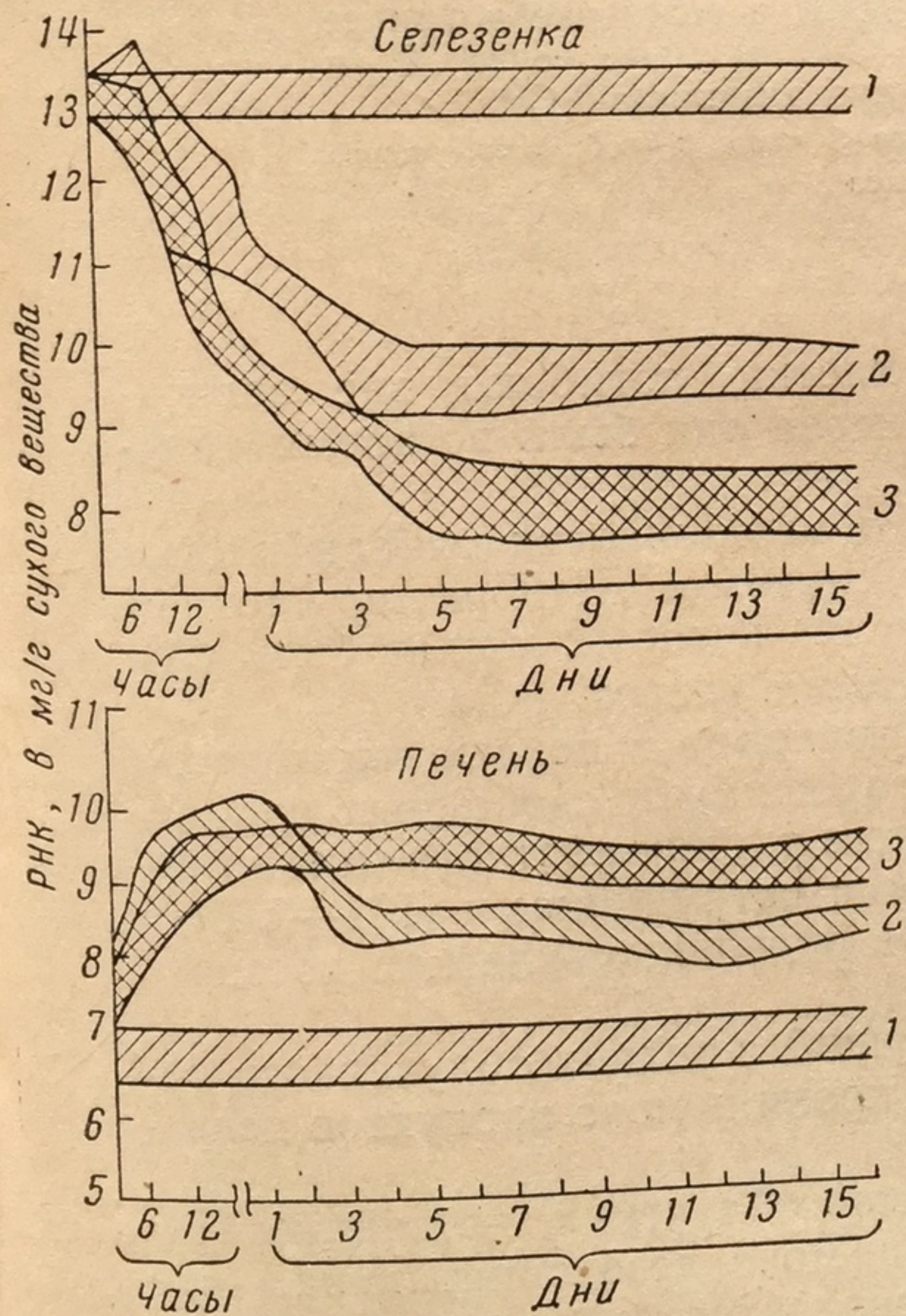


Рис. 90. Изменение содержания РНК в органах облученного животного  
1 — контроль; 2 — облучение с защитой органа; 3 — тотальное облучение 600 p



Как это видно из кривых, представленных на рис. 92, падение удельной активности происходило одинаково как в облученных тканях, так и в контроле, и не менялось в зависимости от времени облучения после включения  $C^{14}$  в клетки. Как отмечают авторы, эту закономерность можно объяснить, если предположить,

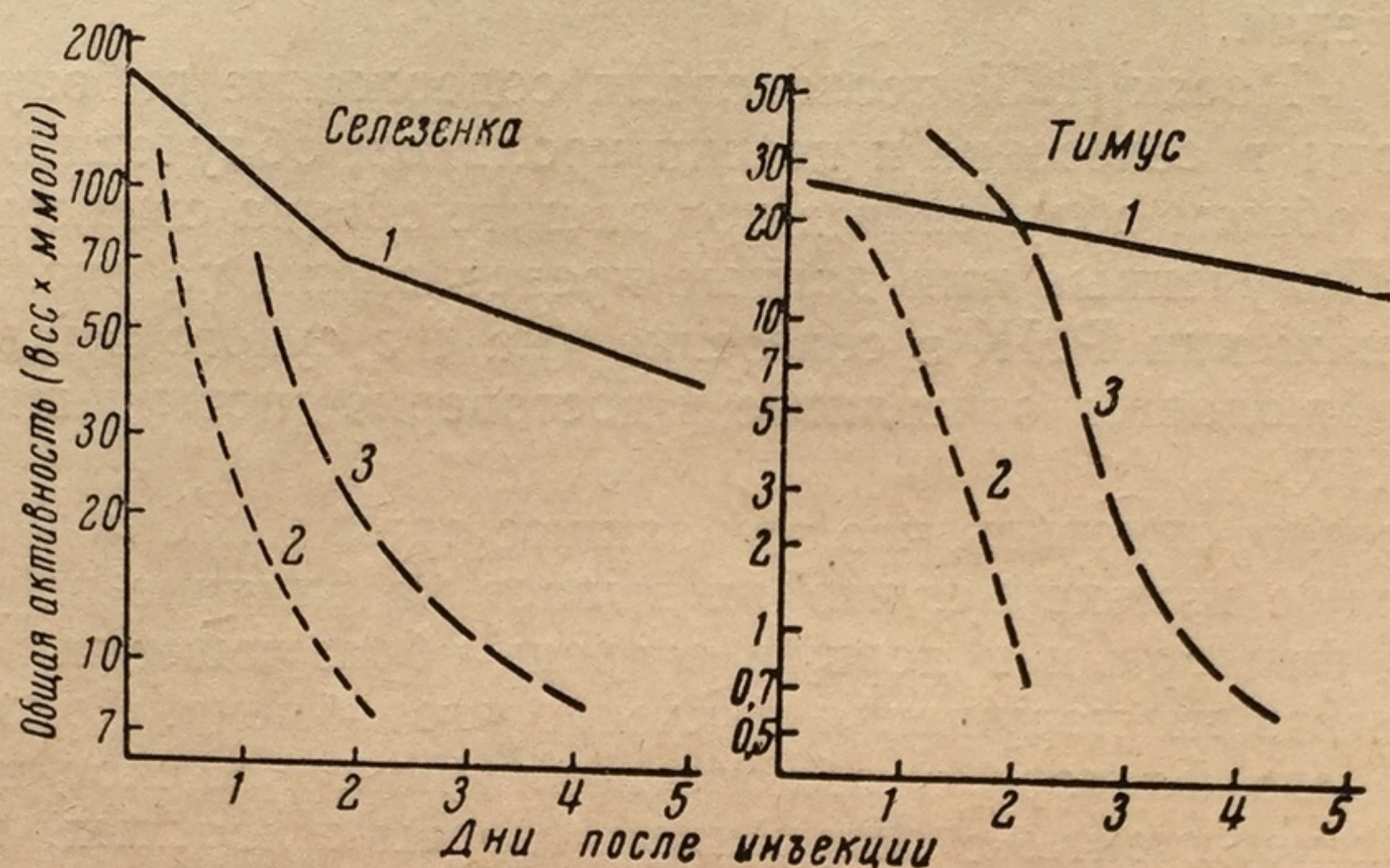


Рис. 91. Общая активность ДНК в селезенке и тимусе нормальных и облученных (400 p) крыс через 3 и 24 часа после инъекции тимидина-2- $C^{14}$   
1 — контроль; 2 — облучение через 3 часа; 3 — облучение через 24 часа

что в результате, облучения клетки погибают вне зависимости от того, в какой стадии митоза они были во время облучения.

Этот важный вывод говорит о возможности гибели клетки от иных причин, не связанных с синтезом ДНК и нарушением цикла митоза, причин, возникновение которых может быть следует искать в цитоплазме облученных клеток.

Облучение целого организма приводит в первые часы после облучения к резким сдвигам в содержании свободных нуклеотидов в клетках, что было показано в тканях костного мозга биохимическими методами Критским с сотрудниками [131—133] и прослежено цитофотометрически в отдельных клетках костного мозга Бродским и Суетиной [134].

Интенсивный распад ДНК, идущий в тканях облученного организма, приводит к появлению в крови и моче продуктов деградации.

Одним из характерных признаков облучения, по данным Паризек [135], является появление в моче дезоксицитидина, что было подтверждено и детализировано также другими исследо-



вателями [136, 141, 142]. Выведение с мочой мочевой кислоты несколько падает в результате облучения [137—139], однако это

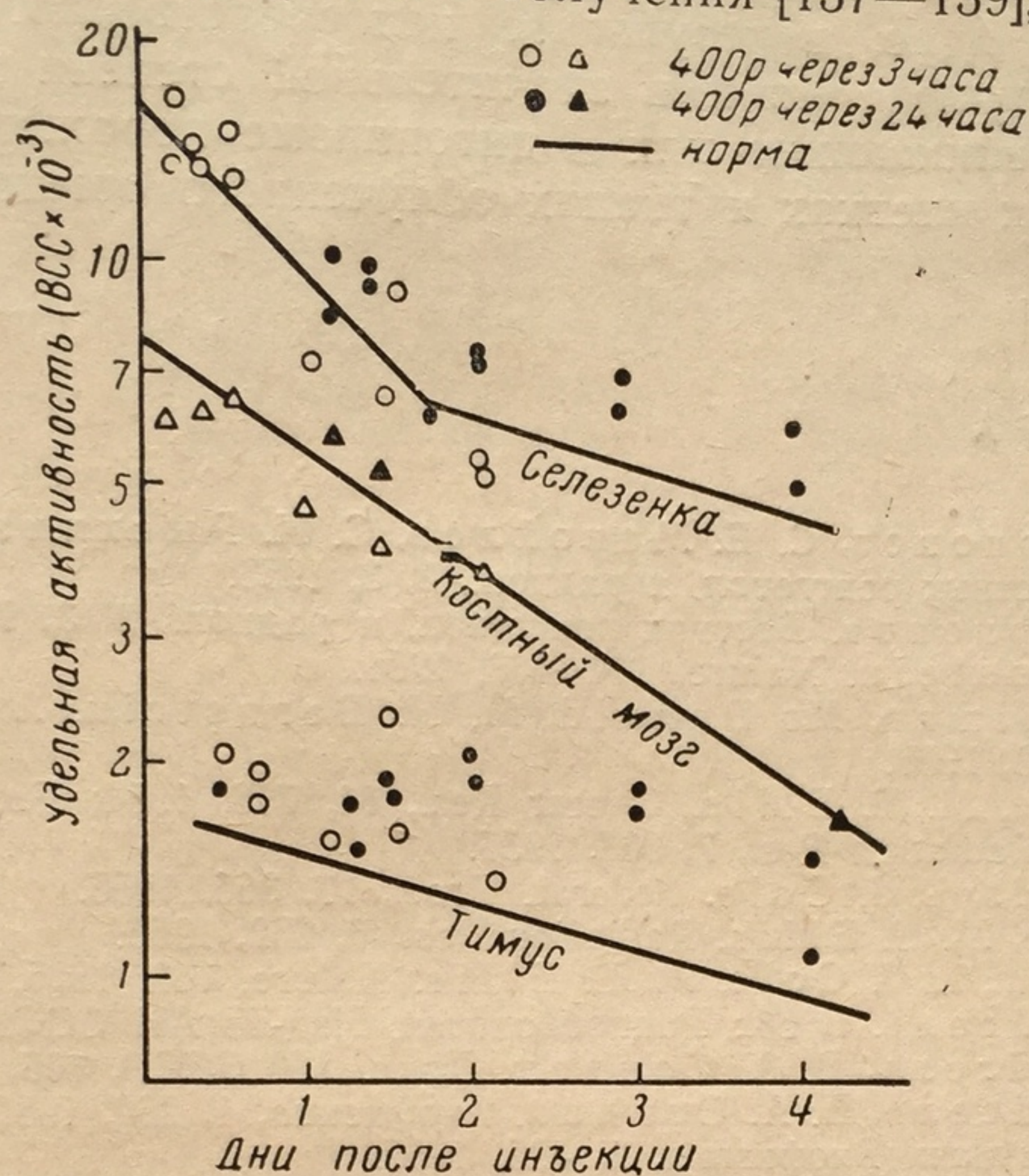


Рис. 92. Падение удельной активности ДНК в различных тканях нормальных и облученных крыс

происходит за счет ее усиленного окисления в печени в аллантоин, выделение которого закономерно возрастает с первого дня после облучения [139, 140] на 40—50%.

\* \* \*

Суммируя приведенные данные о влиянии радиации на обмен нуклеиновых кислот, следует отметить большую радиочувствительность этого процесса. Угнетение синтеза ДНК происходит, в основном, на стадии окончательного формирования ее предшественников и в первую очередь образования тимидина в ядре клетки, его фосфорилирования и включения. Так как различные клетки в ткани находятся на разных стадиях синтеза ДНК, последний никогда не подавляется полностью, даже при дозах, летальных для целого организма.

Вновь синтезируемая после облучения ДНК качественно отличается от нормальной, в первую очередь уменьшенным содержанием тимидина. Задержка синтеза ДНК вызывает остановку и извращение деления, однако митоз может остановиться и по другим причинам, если облучение имеет место уже после окон-



чания синтеза ДНК в клетке. В лучевом нарушении обмена нуклеиновых кислот принимают участие не только процессы, возникающие в ядре, в результате непосредственного облучения ядерных структур, но и в значительной степени гуморальные факторы, возникающие или в цитоплазме пораженной клетки или в других клетках и тканях облученного организма.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Л. Ф. Ларионов, С. Е. Манойлов, С. Н. Рыскина, Е. Л. Сорокина. Вестник рентгенол. и радиол., 3, 3, 1953.
2. Л. Ф. Ларионов. Вестник рентгенол. и радиол., 2, 3, 1954.
3. M. N. Bernstein. Nature, 174, 463, 1954.
4. B. P. Kaufman, Mo Donald, M. H. Bernstein. Ann. N. Y. Acad Sci., 59, 553, 1958.
5. L. J. Cole, M. E. Ellis. Cancer Res., 14, 738, 1954; Federat. Proc., 15, 411, 1956; Radiation Res., 7, 508, 1957.
6. M. E. Ellis, L. J. Cole. Federat. Proc., 17, 366, 1958.
7. L. J. Cole, M. E. Ellis. Radiation Res., 5, 252, 1956.
8. R. K. Main, L. J. Cole, M. E. Ellis. Nature, 180, 1285, 1957.
9. М. Н. Мейсель. В сб.: Радиобиология. Изд-во АН СССР, 1958, стр. 26.
10. М. Н. Мейсель, В. А. Сондак. Докл. АН СССР, 105, 1221, 1955.
11. М. Н. Мейсель, В. А. Сондак. Биофизика, 1, 262, 1956.
12. В. А. Сондак. Биофизика, 2, 495, 1957.
13. H. N. Joshi, K. S. Korgaonkar. Nature, 183, 400, 1959.
14. N. S. Ranadive, K. S. Korgaonkar. Biochim. et biophys. acta, 39, 547, 1960.
15. М. Н. Мейсель. Е. М. Брумберг, Т. М. Кондратьева, И. А. Баровский. Труды Междунар. симп. по первичным процессам, 1960.
16. А. Л. Шабадаш. Архив анат., гистол. и эмбриол., 36, № 1, 1; № 4, 1, 1958.
17. А. Л. Шабадаш. Цитология, 1, 15, 1959.
18. А. Л. Шабадаш, Т. П. Зеликина, Н. Д. Аграчева. Докл. АН СССР, 128, 1290, 1959.
19. А. Л. Шабадаш. Радиобиология, 1, 2, 212—223, 1961.
20. А. М. Кузин, А. Л. Шабадаш [А. М. Кузин, А. Л. Шабадаш]. В кн.: «Progress in Nuclear energy», ser. 6, 2, 364, 1959.
21. E. L. Hess, S. E. Lagg. Radiation Res., 9, 260, 1958.
22. P. Alexander, J. T. Lett, H. Moroson, K. A. Stacey. Internat. J. Rad. Biol. Suppl. 1, 147, 1960.
23. P. Alexander, J. T. Lett. Nature, 187, 933, 1960.
24. T. Alper. Brit. J. Radiol., 27, 50, 1954.
25. M. Ebert. T. Alper. Nature, 173, 987, 1954.
26. T. Alper, M. Ebert. Science, 120, 608, 1954.
27. T. Alper. J. Gen. Microbiol., 11, 313, 1954.
28. H. Ephrussi-Taylor, R. Latarjet. Biochim. et biophys. acta, 16, 183, 1955.
29. F. M. De Filippes, W. R. Guild. Radiation Res., 11, 38, 1959.
30. Р. Латарже [R. Latarjet]. В сб.: Ионизирующая радиация и клеточный метаболизм. М., 1958, стр. 334.
31. T. Limperos, W. Mosher. Amer. J. Rentgenol., 63, 681, 691, 1950.
32. R. N. Feinstein, C. L. Butler. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 79, 1, 1952.
33. J. A. V. Butler. Radiation Res., 4, 20, 1956.



34. А. М. Кузин, Е. В. Будилова. Докл. АН СССР, 98, 6, 961, 1954.
35. А. М. Кузин, Н. Б. Стражевская, В. А. Стручков. Радиобиология, I, 10, 1961.
36. K. S. Kirby. Biochem. J., 70, 260, 1958.
37. Д. М. Спитковский. Биофизика, 1, 319, 1956.
38. M. G. Ord, L. A. Stocken. Advances Radiobiol., 1, 65, 1957.
39. В. А. Стручков, А. М. Кузин. Радиобиология, I, 153, 1961.
40. A. Bendich. J. Amer. Chem. Soc., 80, 3943, 1958.
41. А. Л. Поздняков. Мед. радиол., 4, 3, 57, 1959.
42. Г. П. Торопова, Н. В. Ермолаева. Мед. радиол., 3, 5, 24, 1958.
43. F. M. De Filippes, W. R. Guild. Radiation Res., 11, 38, 1959.
44. R. M. Drew. Radiation Res., 3, 116, 1955.
45. A. Norman, J. A. Field. Arch. Biochem. a. Biophys., 71, 170, 1957.
46. P. Alexander. В кн.: The initial effects of ionizing radiations on cells. London, 1961, p. 3.
47. P. Alexander, J. T. Lett, H. Moroson, K. A. Stacey. Immediate and low level effects of ionizing radiations. London, 1960, p. 47.
48. P. F. Davison. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 45, 1510, 1959; Nature, 185, 918, 1960.
49. A. D. Hershey, E. Burgi. J. Mol. Biol., 2, 143, 1960.
50. Г. П. Георгиев, В. А. Стручков. Биофизика, 5, 745, 1960.
51. В. А. Стручков. Биофизика 7, вып. 5, 1962.
52. В. А. Стручков, Н. Б. Стражевская, Джоун-Хе. Биофизика, 8, 1963 (в печати).
53. В. А. Стручков, Н. В. Стражевская. Радиобиология, I, 172, 1961.
54. А. М. Кузин, И. Барановская, Н. Б. Стражевская, В. А. Стручков. Радиобиология, I, 476, 1961.
55. Н. Б. Стражевская, В. А. Стручков. Радиобиология, 2, вып. 1, 9, 1962.
56. Т. Н. Рысина, Р. Е. Либинзон. Биофизика, 3, 487, 1958.
57. G. Barron, P. Johnson, A. Sawi. Radiation Res., 1, 410, 1954.
58. А. В. Савич, М. И. Шальнов. Радиобиология, I, 23, 1961.
59. В. И. Токарская. Радиобиология, 2, 161, 1962.
60. M. Berenbom, E. R. Peters. Radiation Res., 5, 515, 1956.
61. Paleček [Палечек]. Folia biol., 5, 432, 1959.
62. М. С. Успенская. Мед. радиол., 3, 5, 30, 1958.
63. L. Ahlstrom, H. Euler, G. Hevesy. Ark. kemi, mineral., geol., A, 19, 9, 1944.
64. G. Hevesy. Rev. Modern Phys., 17, 102, 1945.
65. G. Hevesy. Nature, 163, 869, 1949.
66. А. М. Кузин, Е. В. Будилова. Докл. АН СССР, 91, № 5, 1183, 1953.
67. P. Zavick. Federat. Proc., 12, 1, 236, 1953; Radiation Res., 1, 221, 1954.
68. H. Harrington, P. Lovick. Federat. Proc., 12, 1, 214, 1953; Arch. Biochem. a. Biophys., 54, 6, 1955.
69. L. S. Kelly, A. H. Payne. Federat. Proc., 12, 76, 1953; Acta radiol. Suppl. 116, 693, 1954.
70. K. Paigen, B. M. Kaufmann. J. Cellular a. Compar. Physiol., 42, 2, 163, 1953.
71. Р. Е. Либинзон. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиол. Секция эксперим. радиол., 66, М., 1956.
72. J. F. Thomson, W. W. Tourtellotte, M. S. Carttar, Y. B. Stoger. Arch. Biochem. a. Biophys., 42, 1, 185, 1953.
73. M. G. Ord, L. A. Stocken. Progr. Radiobiol., 2, 65, 1957.
74. J. L. von Lancker. Biochim. et biophys. acta, 33, 587, 1959.
75. Е. А. Диковенко. Мед. радиол. 3, 6, 51, 1958.
76. Н. М. Сисакян. В сб.: Действие облучения на организм. Изд-во АН СССР, 1955, стр. 137.
77. S. R. Pelc, A. Howard. Acta radiol., Suppl. 116, 699, 1954.



78. S. R. Pelc, A. Howard. *Radiation Res.*, 3, 135, 1955.
79. A. Howard, S. Pelc. В кн.: «Ciba Foundat. Conf. of Isotopes in Biochem.», London, 1951, p. 138.
80. A. Howard, S. Pelc, *Heredity*, Suppl. 6, 261, 1953.
81. B. Holmes. В кн.: «Ciba Foundat. Conf. on Isotopes in Biochem.», London, 1951, p. 114.
82. J. F. Thomson, M. S. Carttar, R. W. Taurtellott, *Radiation Res.*, 1, 165, 1954.
83. P. Weymouth. *J. Nat. Cancer Inst.*, 15, 981, 1955.
84. Y. W. Cardella, E. Y. Lichtler. *Cancer Res.*, 15, 529, 1955.
85. М. Н. Мейсель. В сб.: Действие облучения на организм, 1955, стр. 78.
86. C. Y. Yen, E. P. Anderson, P. K. Smith. *Radiation Res.*, 11, 7, 1959.
87. E. H. Cooper, E. L. Alpen. *Internat. J. Rad. Biol.*, 1, 344, 1959.
88. M. G. Ord, L. Stocken. *Biochem. J.*, 63, 3, 1956.
89. O. F. Nygaard, R. L. Rotter. *Radiation Res.*, 10, 462, 1959.
90. А. Говард [A. Howard]. В сб.: Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм. М., 1958, стр. 241.
91. G. Whitmore, Y. Till, R. Gwatkin, L. Simonovitch, A. Graham. *Biochim. et biophys. acta*, 30, 583, 1958.
92. Y. F. Whitfield, R. H. Rixon. *Exp. Cell Res.*, 18, 126, 1959.
93. L. G. Laitha, R. Oliver, T. Kumatori, F. Ellis. *Radiation Res.*, 8, 1, 1958.
94. Б. Н. Тарусов. В сб.: Первичные процессы лучевого поражения. Под ред. Б. Н. Тарусова. Медгиз, 1937, стр. 17.
95. R. M. Iammario, M. Berenbom. *Radiation Res.*, 11, 820, 1959.
96. В. Я. Калачева. Автореф. канд. диссертации. М., 1957.
97. А. М. Кузин, В. И. Токарская-Меренова. *Биохимия*, 24, 80, 1959.
98. А. М. Кузин, В. И. Токарская-Меренова. *Биофизика*, 4, 446, 1959.
99. В. И. Токарская. *Радиобиология*, 1, 193, 1961.
100. В. И. Токарская. *Радиобиология*, 1, 330, 1961.
101. Ch. E. Carter. *Ann. Rev., Biochem.*, 25, 123, 1956.
102. А. М. Кузин, Сун-Чи, Г. Н. Саенко. *Биофизика*, 3, 325, 1958.
103. И. М. Васильев, Н. Д. Рыбалка, Цинь Су-юнь. Докл. АН СССР, 119, 62, 1958.
104. D. Kanazir, M. Errera. *Biochim. et biophys. acta*, 14, 62, 1954.
105. N. De Nicola. *Experientia*, 6, 432, 1950.
106. S. Okada. *Nature*, 185, 193, 1960.
107. J. Passonneau, J. Totter. *Radiation Res.*, 3, 304, 1955.
108. B. M. McDougall, R. L. Blakley. *Nature*, 188, 944, 1960.
109. М. Е. Какулия. Рефераты V междунар. биохим. конгр., 2, 429, М., 1961.
110. R. Logan, M. Errera, A. Ficq. *Biochim. et biophys. acta*, 32, 147, 1959.
111. R. Logan. *Biochim. et biophys. acta*, 35, 252, 1959.
112. V. G. Allfrey, A. E. Mirsky. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 43, 821, 1957.
113. T. R. Breitman, G. S. Webster. *Exp. Cell Res.*, 18, 2, 413, 1959.
114. Е. В. Будилова. *Радиобиология*, 1, 333, 1961.
115. Е. В. Будилова. *Радиобиология*, 2, 1962 (в печати).
116. L. S. Kelly. *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1, 24, 1954.
117. L. S. Kelly. *Radiation Res.*, 2, 490, 1955.
118. Б. Холмс [B. E. Holmes]. В сб.: Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм. М., 1958, стр. 276.
- 118a. R. E. Beltz, J. Van Lancker, V. R. Potter. *Canc. Res.*, 17, 688, 1957.
119. D. B. Cater, B. E. Holmes, L. K. Mee. *Acta radiol.*, 46, 655, 1956.



120. Z. Bacq, P. Alexander. В кн.: The initial effects of ionizing radiations on cells. London, 1961, p. 13.
121. M. E. Gaulden. Records Genetic Soc. Amer., 25, 651, 1956.
122. L. S. Kelly. Progr. Biophys. a. Biophys. Chem., 8, 144, 1957.
123. R. B. Painter, J. S. Robertson. Radiation Res., 11, 206, 1959.
124. W. A. Creasey. Biochim. et biophys. acta, 38, 181, 1960.
125. S. Osawa, W. C. Allfry, A. E. Mirsky. J. Gen. Physiol., 40, 491, 1957.
126. E. R. Walwick, R. K. Main. Nucl. Sci. Abstrs., 13, N 18, 15840, 1959.
127. L. A. Stocken. Radiation Res., Suppl. 1, 53, 1959.
128. Л. Чейка, Я. Носек. Мед. радиол., 4, 12, 21, 1959.
129. Е. А. Диковенко. Мед. радиол., 3, 2, 42, 1958.
130. O. F. Nygaard, R. L. Potter. Radiation Res., 12, 131, 1960.
131. Г. А. Критский. Биохимия, 24, 73, 1959.
132. Г. А. Критский, В. А. Копылов. Биохимия, 25, 34, 1960.
133. Г. А. Критский, Ф. Н. Ройтман. Биохимия, 26, 148, 1961.
134. В. Я. Бродский, И. А. Суетина. Биофизика, 3, 92, 1958.
135. J. Parizek. Nature, 182, 721, 1958.
136. Н. А. Федоров. Мед. радиол., 4, 9, 75, 1959.
137. S. P. Stearner, A. M. Brues, E. J. Christian. Nucl. Sci. Abstrs., 5, 1723, 1951.
138. Ф. Н. Ривош. Вестник рентгенол. и радиол., 10, 420, 1932.
139. Г. А. Федорова, П. М. Бабарин. Мед. радиол., 3, 5, 90, 1958.
140. C. Gross, P. Mandel. C. r. Acad. Sci., 231, 631, 1950.
141. И. Паржизек, М. Ариент, З. Динстбир, Я. Шкода. Мед. радиол., 5, 3, 31, 1960.
142. Т. А. Федорова, М. С. Успенская, С. С. Василейский, Е. М. Беляева. Мед. радиол., 5, 10, 42, 1960.



## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ОБМЕН БЕЛКОВ

**Ц**ентральное положение, которое занимают белки в построении структур и функциях живой клетки, делает понятным большой интерес к вопросу действия ионизирующей радиации на обмен этих веществ. Несколько схематизируя картину, можно а priori предположить следующие возможные пути действия радиации.

1. Непосредственное воздействие на молекулы белка в живой клетке, изменение нативного состояния, денатурация, которые приводят к нарушениям отдельных сторон белкового обмена.

2. Воздействие ионизирующей радиации на биохимические механизмы биосинтеза белков.

В результате такого воздействия возможно общее или частичное торможение белкового синтеза или, наконец, качественное изменение синтезируемых молекул белка.

3. Активация ионизирующей радиацией протеолитических ферментов в клетке, которая приведет к общему или специфическому распаду белковых молекул.

4. Наконец, для сложного организма животных следует всегда считаться с возможностью косвенного воздействия радиации через эндокринные системы, регулирующие у контрольных животных азотистое равновесие и обмен белка в целом.

Посмотрим, что же в настоящее время известно об изменениях белкового обмена под влиянием облучения и о роли этих изменений в радиационном поражении живого организма при относительно небольших дозах радиации.

### Об изменении нативной структуры белковых молекул *in vivo*

Решение вопроса об изменении нативной структуры белка при облучении живого организма представляет значительные трудности. Хорошо известно, что цитоплазма клеток и межклеточные образования, содержащие белок (например, плазма или



сыворотка крови у млекопитающих, соединительная ткань и т. д.), всегда представлены очень сложной системой белковых веществ, системой динамической, в которой постоянно идет новообразование и распад отдельных молекул; системой, которая может быть охарактеризована и суммарными показателями ее нативного состояния и показателями отдельных индивидуальных белков после их искусственного выделения. Если рассматривать возможность изменения нативного состояния индивидуальных белков непосредственно под влиянием радиации, то большинство имеющихся в нашем распоряжении фактов говорят о том, что при сублетальных и даже летальных дозах облучения не обнаруживается существенных денатурационных изменений белковых молекул.

В главе четвертой мы подробно рассмотрели воздействие радиации *in vitro* как на растворы белков, так и на изолированные белки, облучаемые в сухом состоянии. Заметная денатурация чистых белков наблюдалась, как правило, при дозах выше 10—20 тыс. р. Применяя особо чувствительный метод — сорбции белком меченых аминокислот, удалось обнаружить незначительные изменения в сорбционных свойствах растворов белка и при меньших дозах — порядка 500—1000 р. Однако все эти сдвиги наблюдались в разбавленных растворах чистых белков. Учитывая защитное действие многих веществ в цитоплазме, трудно предполагать, что белки в этих условиях также не повысят свою устойчивость, и, действительно, многочисленные исследования белков-ферментов убедительно говорят нам о большой устойчивости в живой клетке даже тех ферментов, которые в чистых разбавленных растворах оказывались достаточно радиочувствительными. Одним из примеров такой защиты белка в естественных условиях являются опыты с миозином. О нативности этого белка можно судить по его ферментативной активности и по способности к сокращению актомиозинового геля.

Раствор чистого миозина при облучении *in vitro* начинает заметно денатурироваться и терять свои ферментативные свойства при дозах в 20—50 тыс. р.

Пальмин [1] исследовал свойства миозина, изолированного из мышц, облученных в дозе 1500 тыс. р и не обнаружил потери нативных свойств этого белка. При облучении сыворотки крови в дозах 250 тыс. р электрофоретически не удалось обнаружить каких-либо денатурационных изменений отдельных белков сыворотки [2]. Попытки установить изменение аминокислотного состава суммарных белков крови и печени крыс при острой лучевой болезни также не привели к положительным результатам; отклонения были в пределах ошибок определения [3].

При общем облучении животного организма наблюдается отчетливо выраженное изменение состава плазмы и сыворотки



крови. Эти изменения не являются следствием непосредственно-го действия радиации на белки крови. Несомненно, здесь мы на-блюдаем вторичную реакцию целого организма, обусловленную изменением нормальных функций кроветворных систем, проис-ходящим при непосредственном участии нейрогуморальных фак-торов.

Исследования ряда советских авторов (Блохина, Иванов, Ба-лабуха, Заец и другие) [3] обнаружили быстро наступающие из-менения во фракционном составе плазмы после тотального облу-чения в дозе 1200 р. Некоторые данные этих авторов приведены в табл. 47.

Таблица 47

Изменение белкового состава (в %) плазмы крови кроликов после тотального облучения при дозе 1250 р

Срок взятия крови	Альбу- мин	$\alpha$ -гло- булин	$\beta$ -гло- булин	Фибри- ноген	$\gamma$ -гло- булин
До облучения . . . . .	58,0	10,7	14,9	7,8	8,6
Через 24 часа после облучения . . . . .	42,1	15,8	20,0	14,7	8,4
До облучения . . . . .	60,1	10,3	15,5	8,9	5,1
Через 24 часа после облучения . . . . .	47,3	16,3	17,2	14,2	5,4

У собак при летальных дозах наблюдались меньшие сдвиги в том же направлении [4]. Характерным является уменьшение альбуминов и увеличение  $\alpha$ - и  $\beta$ -глобулинов и фибриногена.

Таким образом, часто определяемое в клинике отношение альбумин/глобулин (А/Г) уменьшается. Эта закономерность от-мечалась во многих исследованиях [5—18].

Закономерно наблюдаемое повышение  $\alpha$ -глобулинов было ис-следовано на специальном штамме мышей ( $C_3H_1/HeNa$ ), харак-теризуемым очень малым содержанием  $\alpha$ -глобулинов в норме [19].

Как видно из электрофореграммы, полученной при разделе-нии белков в крахмальном геле по методу Смитис [20] и пред-ставленной на рис. 93, и у этого штамма наблюдается отчетливое повышение  $\alpha$ -глобулина.

Авторы исследовали сыворотку при различных других воз-действиях и показали, что ни введение кортизона (неспецифиче-ский стресс), ни угнетение функций печени четыреххлористым углеродом не вызывало появления в сыворотке  $\alpha$ -глобулина. В то же время введение радиомиметического вещества — азо-тистого аналога иприта — вызывало появление  $\alpha$ -глобулина. Ав-торы приходят к выводу, что появление  $\alpha$ -глобулинов связано со специфическим клеточным распадом, происходящим непосред-ственно под влиянием ионизирующей радиации.



Закономерное повышение  $\alpha$ -глобулинов и падение содержания  $\gamma$ -глобулина на более поздних стадиях лучевого поражения приводит к закономерному изменению соотношения  $\alpha/\gamma$ -глобулинов в зависимости от дозы и времени после облучения. Эти соотношения для крови белых крыс представлены на рис. 94 [21].

Обстоятельные исследования изменения сыворотки крови после облучения методом бумажной хроматографии [22] были проведены на обезьянах. На рис. 95 видно, что и для обезьян подтверждаются общие наблюдения о падении содержания сывороточного альбумина и увеличении  $\alpha$ -глобулина при облучении.

В другой работе на обезьянах [23] также отмечалось увеличение глюкопротеина и падение  $\gamma$ -глобулина.

Как видно из приведенных кривых, абсолютное содержание отдельных фракций подвержено резким периодическим колебаниям. Повышение содержания  $\beta$ -глобулинов, по видимому, тесно связано с возрастанием липопротеидов и к этому вопросу мы еще вернемся при рассмотрении нарушений липоидного обмена.

Говоря об изменении белкового состава крови после облучения, следует указать также на значительные изменения, претерпеваемые особой белковой фракцией крови — пропердином, обладающим бактерицидными свойствами [24]. У крыс, облученных 500 p, по данным одних исследователей, наблюдается быстрое снижение активности пропердиновой системы [24, 25]. По данным других авторов, это снижение появляется только в более поздние сроки и сильно зависит от исхода лучевой болезни [26]. Исследования Багдасарова [27], Раушенбаха [28] и Черткова [29], проведенные на разных животных, показали, что снижение пропердина в крови происходит лишь у тяжело пораженных животных, когда лучевая болезнь заканчивается смертельным исходом (собаки, морские свинки, мыши и др.). Особенно быстро снижается уровень пропердина у облученных обезьян независимо от исхода облучения. У кроликов эта фракция значительно более устойчива [30].

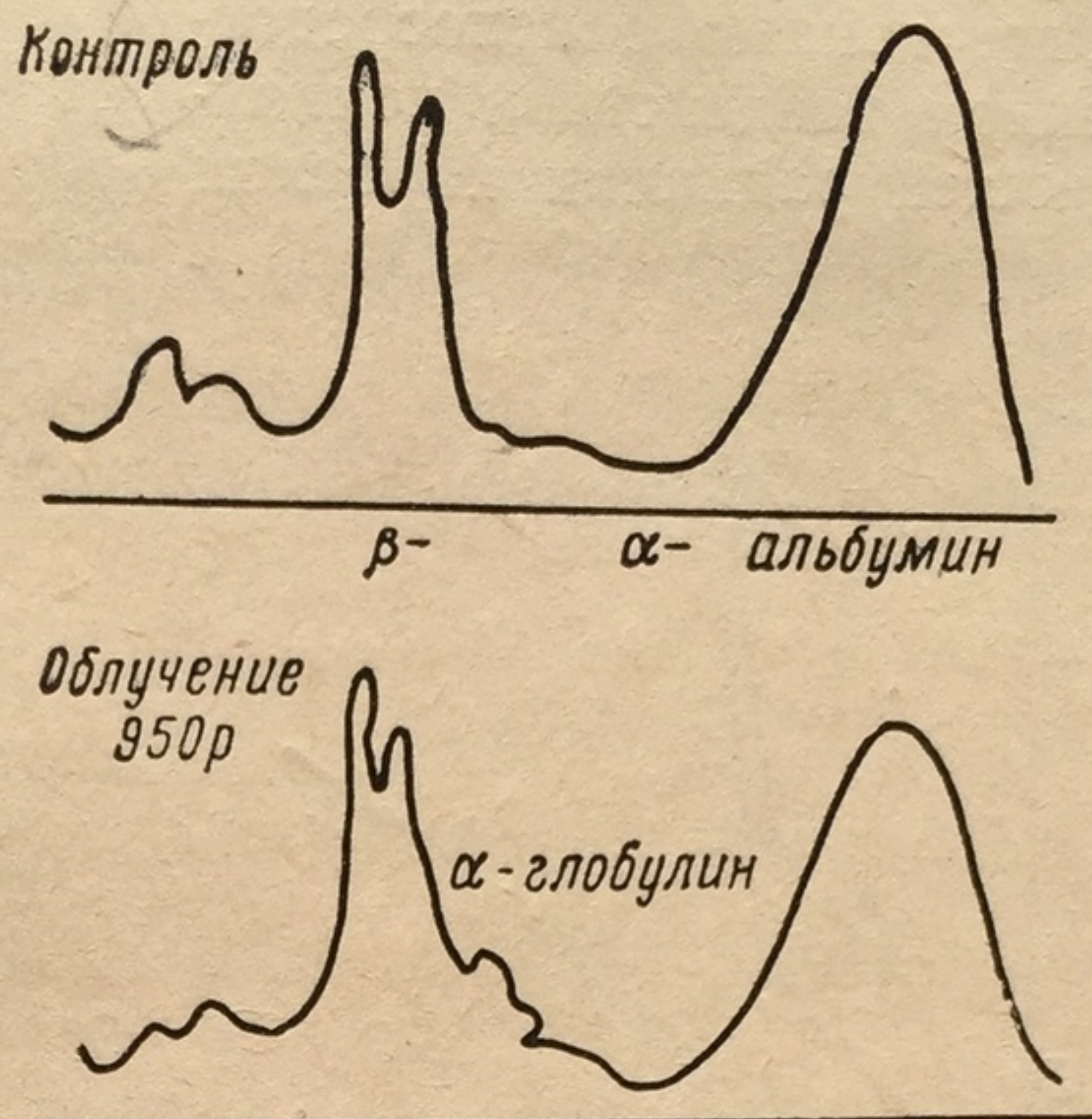


Рис. 93. Электрофореграмма в крахмальном геле белков сыворотки необлученных и облученных (950 p) мышей линии  $C_3H_1/HeNa$   
 $\gamma$ -глобулины не показаны на электрофореграмме



Падение активности пропердина может быть связано с усиленным поступлением в кровь мукополисахаридов, так как тканевые полисахариды способны связывать пропердин [29, 31].

Суммируя приведенные выше данные о непосредственном воздействии ионизирующей радиации на белки

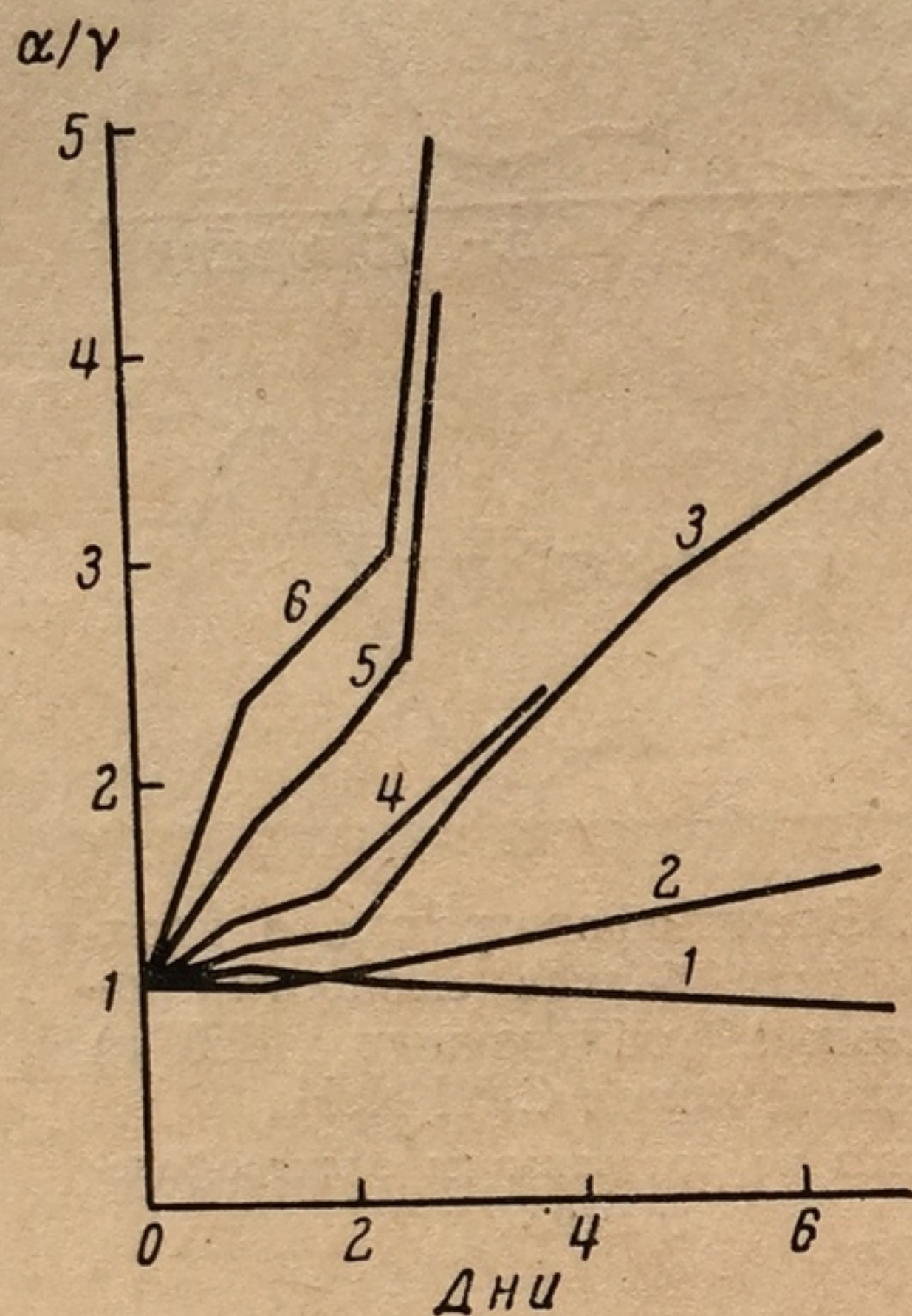


Рис. 94. Отношение  $\frac{\alpha\text{-глобулины}}{\gamma\text{-глобулины}}$  после тотального рентгеновского облучения в различных дозах  
1 — 200 p; 2 — 400 p; 3 — 600 p; 4 — 1200 p;  
5 — 3500 p; 6 — 7000 p

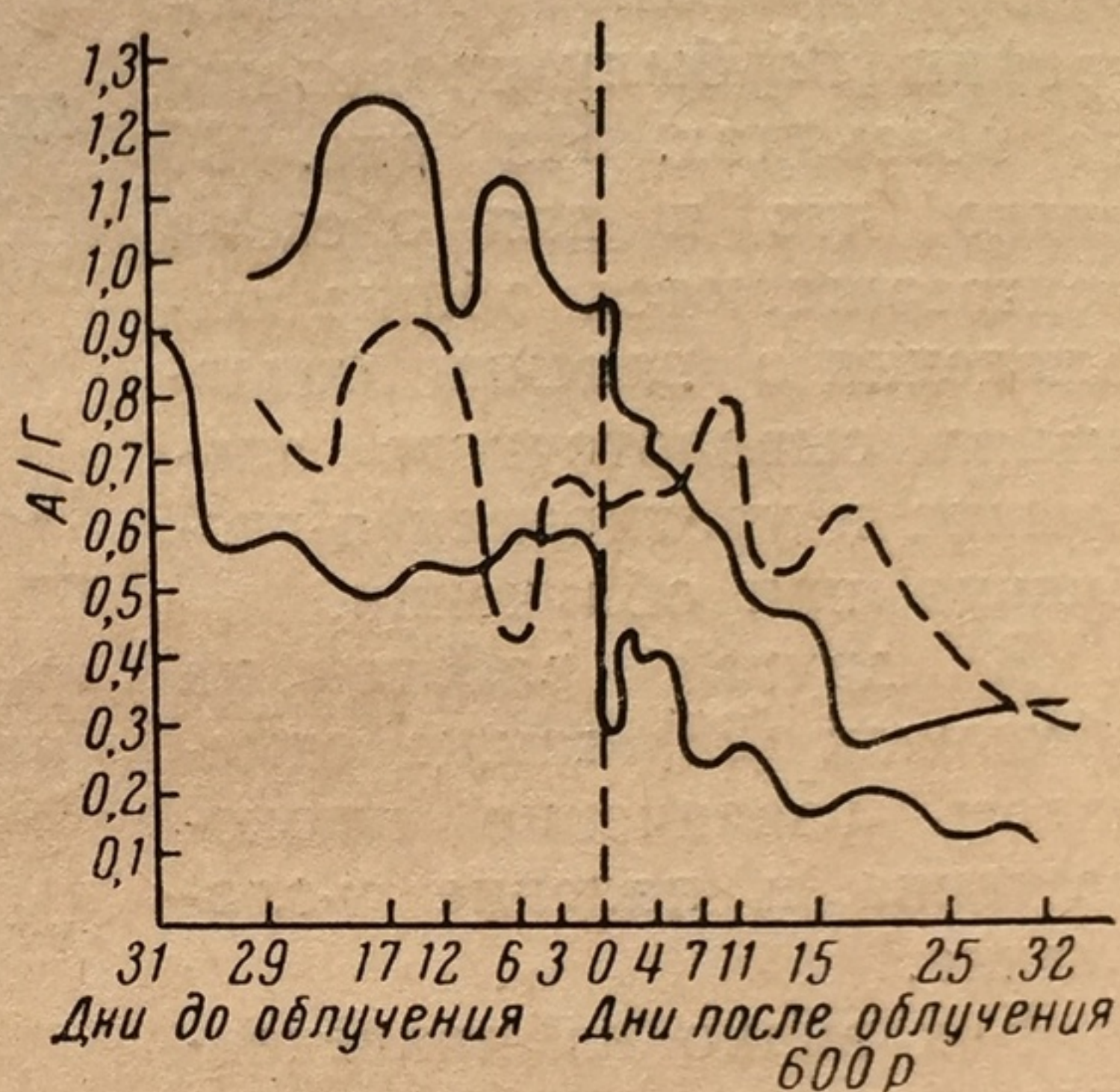
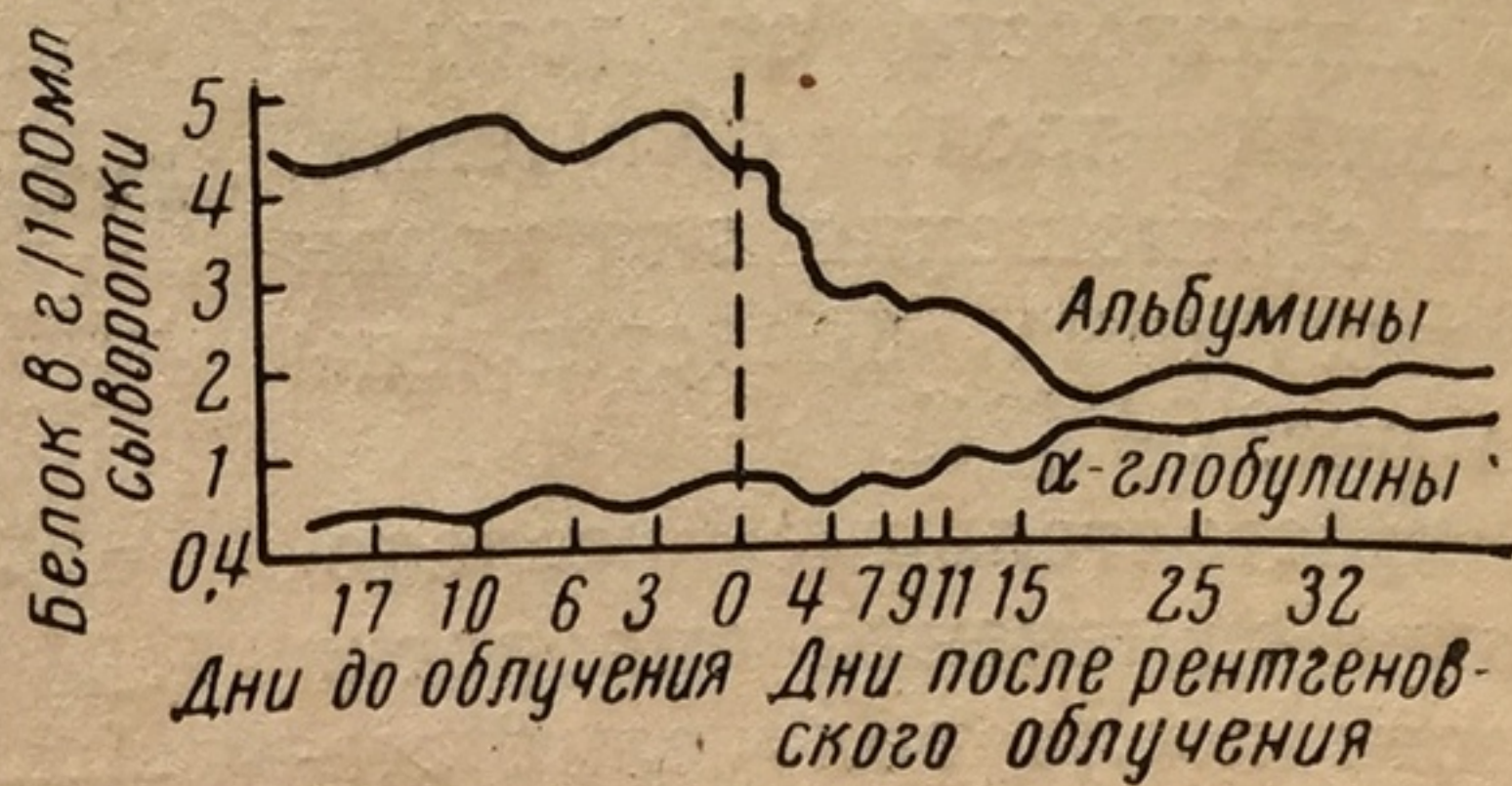


Рис. 95. Отношение  $A/G$  в сыворотке крови обезьян до и после облучения 600 p

в живом организме, мы приходим к выводу, что при летальных дозах (500—1000 p) для многих животных организмов не наблюдается существенного изменения простых белков под влиянием радиации. Наступающие вскоре изменения состава белковых фракций являются следствием нарушения обменных процессов, проницаемости и изменения нейрогуморальной регуляции. При больших дозах, например 10 000 p, для растений имеются отдельные указания на незначительную денатурацию белков, выявляемую методом сорбции меченых аминокислот [32]. Наконец, при применении массивных доз облучения, порядка сотен тысяч рентген и более, когда гибель организма происходит «под лучом» или в короткие интервалы времени после облучения, роль непосредственной денатурации белков резко возрастает и может явиться основной причиной гибели организма.



## Воздействие ионизирующей радиации на биосинтез белков

После ряда исследований Браше [33], Касперсона [34], Замечника с сотрудниками [35—37], Литтлфилда и Келлера [38], Лофтфилда [39], Гейла с сотрудниками [40] и многих других наши представления о механизме синтеза белка в клетке значительно продвинулись вперед [41, 42].

В первом приближении последовательность реакций и системы, принимающие участие в биосинтезе белка, изображены схематично на рис. 96.

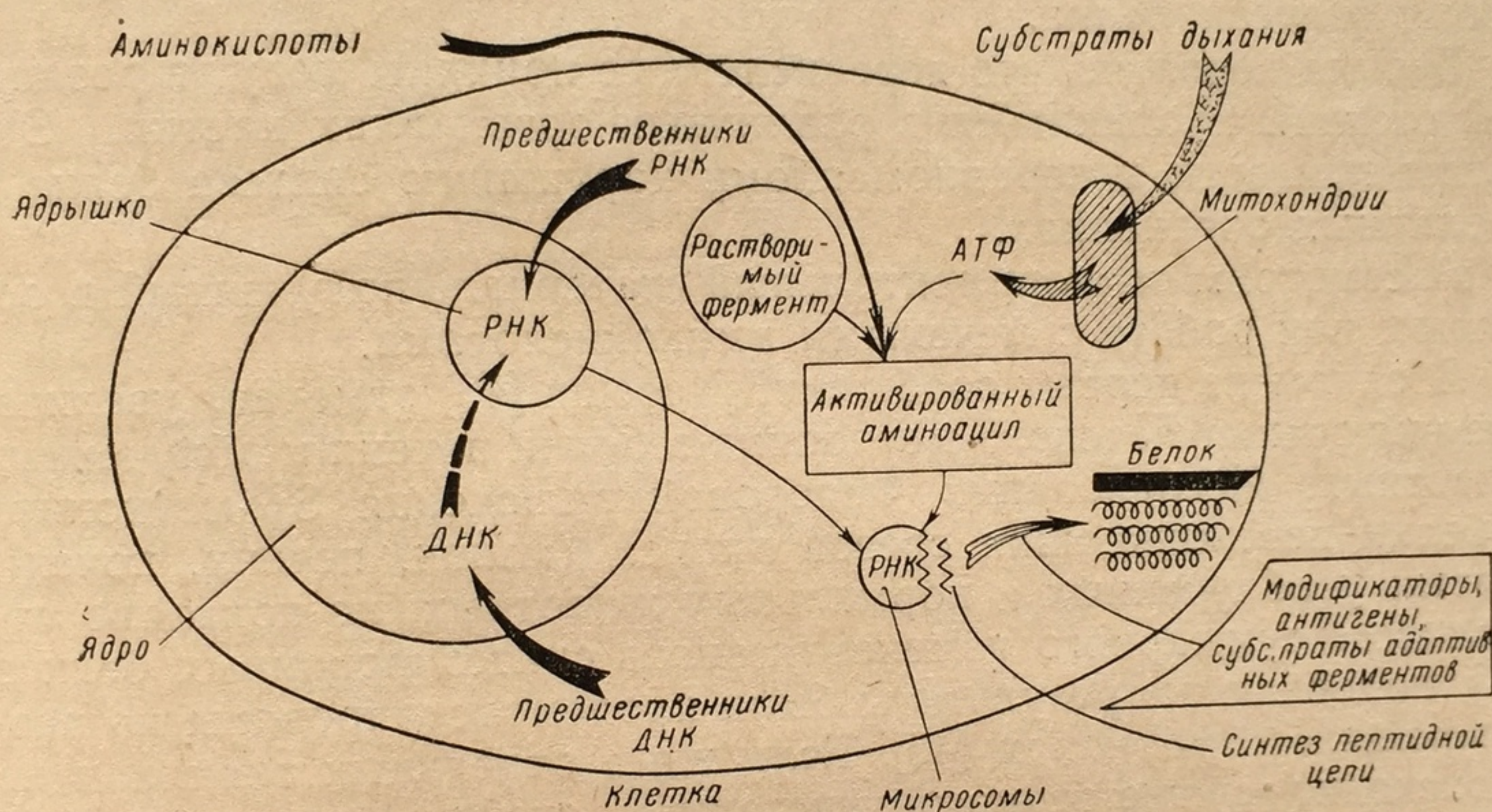


Рис. 96. Схема синтеза белка в клетке

Эта схема говорит нам о том, что синтез белка зависит от образования макроэргических веществ в митохондриях (АТФ), что первичная структура белка (пептидная цепь) образуется на рибонуклеопротеиде микросом и, по-видимому, определяется структурой информационной РНК, которая, в свою очередь, зависит от структуры ДНК. Однако характер вторичных структур белка, образуемых дальнейшим «скручиванием» пептидных цепей, по-видимому, определяется предсуществующими белками и может варьировать в случае внедрения в клетку из внешней среды ряда модификаторов, таких, как белково-полисахаридные или липопротеиновые антигены, необычные субстраты, вызывающие образование адаптивных белков-ферментов.

Известное торможение окислительного фосфорилирования в митохондриях под влиянием ионизирующей радиации может отразиться на интенсивности синтеза белков. Подробно рассмот-



мы, принимающие участие в биосинтезе белка, изображены схематично на рис. 96.

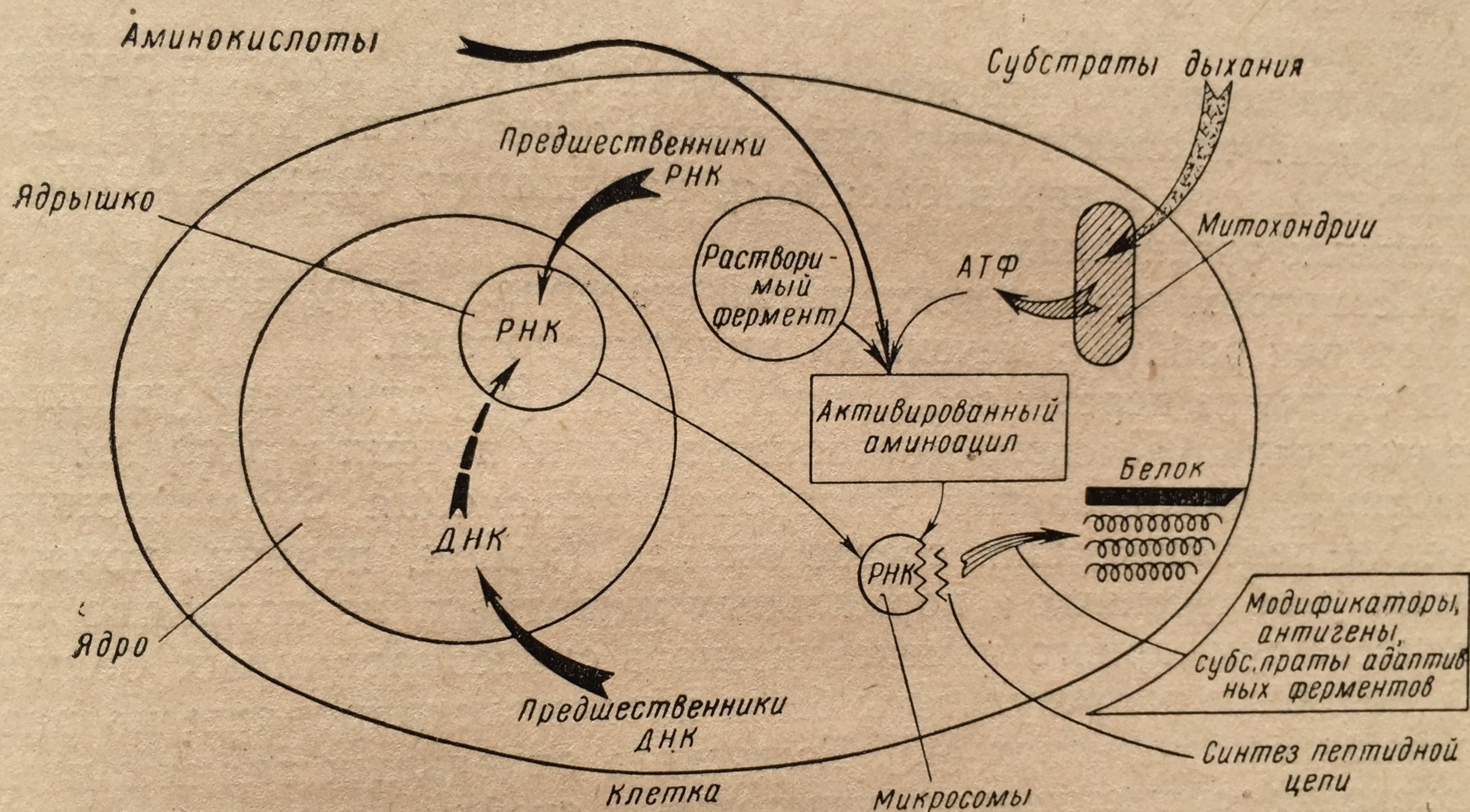


Рис. 96. Схема синтеза белка в клетке

Эта схема говорит нам о том, что синтез белка зависит от образования макроэнергических веществ в митохондриях (АТФ), структура белка (пептидная цепь) образуется на



ренное нами выше влияние облучения на качество ДНК может нарушить ход информации. Модифицированная ДНК изменит качество синтезируемой информационной РНК, что, в свою очередь, может отразиться на качественных особенностях синтезируемого белка.

В настоящее время еще нет данных о нарушении синтеза информационной РНК, хотя синтез суммарной РНК при умеренных дозах облучения почти не изменяется, что пока не дает оснований ожидать торможения синтеза белков из-за недостатка вновь поступающей активной РНК. Правда, значительная активация РНК-аз в облученной клетке будет способствовать распаду РНК и тем самым может служить косвенной причиной нарушения синтеза белка.

Весьма вероятно, что перечисленные причины могут в различной степени проявляться в различных органеллах клетки. Это может привести к неравномерному нарушению синтеза белка в различных органеллах.

Рассмотрим экспериментальный материал, полученный в основном при работе с мечеными аминокислотами.

В одном из первых сообщений Хевеши [43] отмечает увеличение включения меченого метионина в белки печени у облученных животных. Исследование Федоровой включения  $S^{35}$ -метионина в белки переживающих срезов тканей (мышц, печени, почек), взятых у облученных и нормальных животных, не показало отчетливого суммарного изменения вновь синтезированных белков [44]; подобные же результаты были продемонстрированы на развивающихся эмбрионах [45]. Если же в отдельных тканях и не происходит существенного угнетения систем, синтезирующих белок, то все же синтез белка в целом организме оказывается резко нарушенным. При инъекции молодым мышам  $C^{14}$ -аланина на 4-й день после облучения (800 p) наблюдалось значительное снижение включения в белки мышц, при увеличении включения в печень [46]. Аналогичная закономерность наблюдалась и при подкожной инъекции  $S^{35}$ -метионина: на 3-й день после облучения летальной дозой было обнаружено отчетливое снижение включения метионина в белки мышц и селезенки при увеличении его включения в белки других органов [47]. Авторы объясняют эти сдвиги острым белковым голоданием, наступающим к этому времени у облученных животных вследствие нарушения усвоения белков пищи и усилением эндогенного белкового питания ряда органов за счет усиленного распада белков мышц. Торможение синтеза белков под влиянием облучения было показано нами совместно со Стражевской и Эйдусом на растениях [32]. Исследование синтеза белков в облученных проростках пшеницы (1000 p) осуществлялось одновременно двумя путями: по интенсивности внедрения в белки прочно связанного дейтерия и по интенсивности включения гликокола, меченого  $C^{14}$  по карбоксилу.



При этом было обнаружено, что включение дейтерия тормозилось у облученных проростков, что указывало на угнетение синтеза белков. В то же время радиоактивность белка, измеренная по включению  $C^{14}$ -гликокола, увеличивалась у облученных объектов.

Более детальное исследование показало, что наряду с включением гликокола за счет синтеза белка идет еще его адсорбция, которая несколько увеличивается, по-видимому, вследствие денатурационных процессов во время облучения.

Радиоактивность белков за счет адсорбировавшегося гликокола легко удалялась при выдерживании изолированных белков в насыщенном растворе немеченого гликокола. После такой обработки можно было констатировать по включению дейтерия и гликокола угнетение синтеза белков под влиянием облучения на 15—20%. Угнетение белкового синтеза в проростках ржи через 24 часа после облучения в дозе 10 000  $p$  и выше наблюдал Сисакян с сотрудниками [48]. Однако суммарного угнетения синтеза белков в тканях животного организма, как правило, не наблюдалось [49].

Особенно отчетливо было выявлено подавление синтеза специфических белков, несущих определенные биологические функции. Было показано резкое угнетение новообразования белков со свойствами антител [50, 51]. Подавление синтеза антител происходило при небольших дозах облучения. Так, например, заметное торможение в образовании гемолизина было отмечено при иммунизации крыс суспензией эритроцитов овцы через 1—3 дня после облучения. В этом случае даже облучение 175  $p$  (250  $kB$ , 15  $ma$ , 0,5  $mm$   $Cu$ , мощность 50  $p$  в мин.) вызывало резкое снижение синтеза гемолизина [52].

Защита селезенки во время облучения (например ее оперативное выведение и защита свинцом) обеспечивала сохранение способности к синтезу антител, хотя и в более низких титрах [53].

В опытах Диксона, Бюкенца и Телмеджа [54] при облучении кроликов дозами 500  $p$  было показано, что введение антигена за два часа до облучения и во время облучения не задерживало образования антител. Иммунизация же после облучения через 2, 7 и 18 час. приводила к возрастающей во времени задержке синтеза антител, а при введении антигена через 40 час. антитела совсем не образовывались. Эти работы указывают на значительное нарушение процессов белкового синтеза в результате облучения.

Изучение включения  $S^{35}$ -метионина в различные белковые фракции облученных кроликов (500  $p$ ) показало [55], что включение меченого метионина в антитела угнеталось на 30—50% через 48 час. после облучения (начало этого процесса было заметно уже через 4 часа), в то время как включение его в сыво-



роточный альбумин и глобулин сильно увеличивалось после облучения. Интересно отметить, что даже небольшие дозы облучения (390 p для крыс) приводили к длительному подавлению (до 20 дней после облучения) способности организма синтезировать антитела [56].

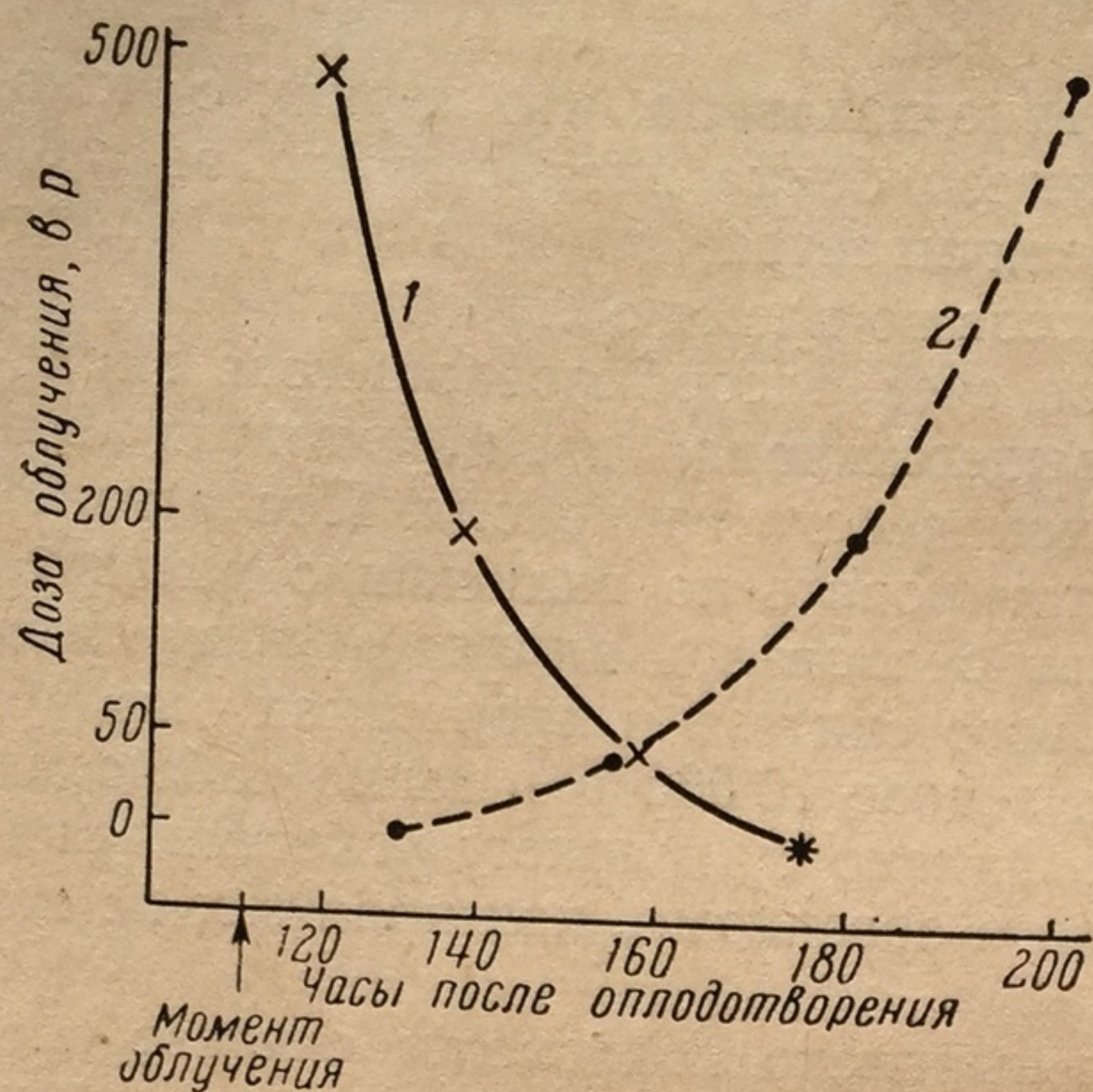


Рис. 97. Изменение сроков начала синтеза контрактильных белков в развивающемся эмбрионе под влиянием облучения  
1 — миозин; 2 — актин

Уменьшение продукции антител после облучения [57] свидетельствует о нарушении синтеза специфических белков.

Интересный пример нарушения синтеза специфических белков был дан Огава [58] при исследовании синтеза контрактильных белков в развивающемся эмбрионе *Triturus pyrrhogaster*. Обычно в развивающемся эмбрионе на 130-й час после оплодотворения начинается синтез актина, миозин же начинает синтезироваться только еще через 50 час. Под влиянием облучения резко тормозился синтез

актина и наоборот ускорялось начало синтеза миозина. Полученные результаты показаны на рис. 97 [58]. Как видно из этих данных, сдвиги обнаруживаются уже при дозе в 50 p.

В первые 1—2 часа после облучения не наблюдалось отчетливого изменения белкового синтеза в отдельных органеллах клетки. Так, Батлер, Конн и Креторин [59], исследуя включение фенилаланина-3- $C^{14}$  в белки ядер, митохондрий, микросом и надосадочной жидкости печени крыс через 1 час после облучения при дозе 500 p не нашли отчетливых сдвигов в обмене этих органелл.

Ричмонд, Орд и Стокен [60] также наблюдали лишь незначительное увеличение включения  $C^{14}$ -глицина и  $C^{14}$ -лизина в белки митохондрий и микросом тимуса, печени и поджелудочной железы крыс через два часа после облучения (1000 p).

В более поздние сроки после облучения наблюдается своеобразное перераспределение синтеза белков в различных клеточных органеллах, что было описано Ильиной [61]. Изучая включение  $S^{35}$ -метионина в различные белки клеточных органелл печени и слизистой оболочки тонкого кишечника крыс в нормальных условиях и на третий день после облучения при дозе 800 p, автор обнаружила значительную интенсификацию синтеза всех



белков в ядрах печени (146—199%) и кислого белка в ядрах слизистой оболочки (141%) при отчетливом торможении включения в белки митохондрий и микросом тех же органов.

Особенно резко тормозилось включение метионина в белки рибонуклеопротеидов микросом, составляя лишь 22—30% от нормы. Включение в белки рибонуклеопротеидов в митохондриях снижалось на 40—60% [62].

Интересно, что включение метионина в альбумины и глобулины митохондрий и микросом в клетках печени не изменялось при облучении; в слизистой кишечника включение в рибонуклеопротеидную фракцию падало на 43—55%. Эти данные показывают, что в клетке под влиянием облучения произошла тонкая дезорганизация внутренней структуры, благодаря которой меняется скорость поступления меченой аминокислоты в те или иные органеллы клетки. О том, что подобные нарушения являются следствием изменений во внутренней организации клеток, а не возникают в результате сдвигов в нейрогуморальной регуляции, говорят эксперименты, показавшие перераспределения в синтезе белков в различных органеллах и у высших растений.

В нашей лаборатории Стражевская исследовала [63] включение  $S^{35}$ -метионина в белки ядер, митохондрий и эргастоплазмы клеток coleoptiles трехдневных проростков пшеницы через 24 часа после облучения при дозе 10 000 p. Не было найдено отчетливого изменения интенсивности суммарного включения в белки после облучения. При почти неизменном включении в белки ядер и эргастоплазмы наблюдалось увеличение включения метионина в белки митохондрий и значительное возрастание содержания белка во фракции митохондрий при расчете на одну клетку.

Об избирательном нарушении синтеза определенных белков говорят также исследования Родионова с сотрудниками [64], показавшие торможение включения  $S^{35}$ -метионина в альбумин крови при неизменном его включении в  $\alpha$ -глобулины, хотя обе фракции белков синтезируются в печени [65, 66]. Также на нефракции белков синтезируются в печени [65, 66]. Также на неодинаковое включение  $S^{35}$ -метионина в различные фракции сыродоточных белков у облученных крыс указывают Гэбриель и Чонг [67], разделявшие белки методом электрофореза на бумаге. Экранирование печени во время облучения (кролики 1000 p) приводило к сохранению способности к синтезу альбумина [68], что еще раз говорит о непосредственной связи процессов биосинтеза белка с ненарушенной структурой клеток.

Отчетливо было показано угнетение синтеза проколлагена в коже крыс, облученных при дозе 650 p. Уже через 24 часа интенсивность включения радиоактивного глицина в проколлаген падала вдвое, а на 6-й день более чем в 10 раз [69]. И здесь отмечается избирательность в угнетении синтеза, так как для другого белка кожи — коллагена, не было показано такого резкого угне-



тения синтеза [70]. При массивных локальных облучениях опухоли (25 кр) также было отмечено подавление синтеза белков и понижение обмена аминокислот, что быть может стоит в связи с угнетением гликолиза и недостатком богатых энергией фосфатов [71].

Интересны данные, показавшие, что синтез адаптивных ферментов у одноклеточных организмов легко угнетается под влиянием ультрафиолетовой радиации.

Серия таких работ была проведена по синтезу дрожжевой галактозидазы при адаптации к галактозе [72]. Было показано, что облучение ультрафиолетовыми лучами приводит к значительному угнетению новообразования фермента, в то время как ионизирующая радиация при дозах до 380 000 *p* не обнаружила отчетливого угнетения синтеза галактозидазы [73—75].

В работах с ультрафиолетовым облучением было показано совпадение максимума спектра поглощения нуклеиновых кислот с участком спектра, наиболее сильно угнетающим синтез фермента [76, 77], что еще раз подчеркивает ведущую роль нуклеиновых кислот в синтезе белков-ферментов.

Ранее мы указывали, что изменение качества синтезируемой после облучения ДНК может привести не столько к количественным нарушениям синтеза белков, сколько к синтезу качественно измененных белков. Вопросы синтеза чужеродных белков в облученном организме представляют исключительно большой интерес и для проблемы образования «радиотоксинов», и для возможного понимания природы отдаленных последствий облучения и, в первую очередь, перерождения нормальной ткани в злокачественную. К сожалению, здесь мы располагаем весьма ограниченным экспериментальным материалом.

Ильина и Пегров [78] исследовали включение двух аминокислот  $C^{14}$ -тирозина и  $S^{35}$ -метионина в суммарные белки ядер, митохондрий, микросом и гиалоплазмы клеток печени и слизистой оболочки тонкого кишечника. Авторы справедливо предполагали, что при сохранении качества синтезируемых белков должно оставаться постоянным для каждого белка соотношение включившихся двух аминокислот. Данные этой работы сведены в табл. 48.

Как видно из приведенных данных, в микросомах печени и слизистой кишечника наблюдается резкое изменение соотношения включаемых аминокислот, что указывает на возможность изменения качества синтезируемого белка. Для решения этого вопроса многие исследователи попытались применить иммунологическую технику для выявления качественного различия белков, синтезируемых в облученном организме. Зильбер, Артамонова, Франк и Снежко [79] привели данные, говорящие о появлении в облученном организме серологически измененных белков. Невлер [80] сообщил о разрушении Н-антигена микробов тифозно-паратифозной группы под влиянием облучения. В опытах *in vitro*



Таблица 48

Отношение  $S^{35}/C^{14}$  в белках органелл тканей крыс  
после тотального облучения

	Контроль	На 3-й день после облучения при дозе 850 p
Печень		
ядра . . . . .	3,0	2,4
митохондрии . . . . .	2,2	3,0
микросомы . . . . .	3,4	0,7
гиалоплазма . . . . .	2,6	2,2
Слизистая тонкого кишечника		
ядра . . . . .	3,2	1,6
митохондрии . . . . .	2,0	2,3
микросомы . . . . .	1,6	0,9
гиалоплазма . . . . .	3,5	1,6

при использовании больших доз облучения было показано изменение антигенной структуры облученных белков [81].

Петров и Ильина [82], применив метод активной анафилактики с десенсибилизацией [83], исследовали антигенные свойства ядер и цитоплазмы клеток печени и слизистой оболочки тонкого кишечника у нормальных крыс и после облучения при дозе 800 p. Были получены указания на некоторое изменение белков цитоплазмы. Морские свинки, сенсibilизированные белками нормальной цитоплазмы печени, не десенсибилизировались полностью белками цитоплазмы от облученных животных; обратная реакция была выражена значительно слабее. В другой работе те же авторы [62] приводят результаты исследования антигенных свойств отдельных клеточных органоидов. Из данных, приведенных в табл. 49, следует, что наиболее резкое изменение

Таблица 49

Различия в антигенных свойствах клеточных органелл контрольных  
и облученных (800 p) крыс

Характеристика различий	Печень				Слизистая оболочка тонкого кишечника			
	ядра	мито- хонд- рии	микро- сомы	гиало- плазма	ядра	мито- хонд- рии	микро- сомы	гиало- плазма
Появление нового антиген- ного качества . . . . .	—	—	+	+	—	+	+	+
Потеря части нормальных антигенов . . . . .	+	+	+	—	+	+	+	—



антигенных свойств наблюдалось в микросомах как печени, так и слизистой оболочки кишечника, хотя сдвиги в разной степени были присущи всем органеллам. При оценке этих опытов следует иметь в виду и возможность аутосенсibilизации животных, за счет массового распада клеток после облучения [84].

Однако дальнейшие исследования [85] подтвердили появление нового антигенного компонента в ядерных нуклеопротеидах, цитоплазматических гранулах и гиалоплазме клеток печени облученных животных наряду с исчезновением какого-то антигенного компонента из ядерных нуклеопротеидов и цитоплазматических гранул.

О качественном изменении микросом при облучении говорят также опыты тех же авторов совместно с Клемпарской [62] по изучению токсичности этих органелл, изолированных из стенок тонкого кишечника. Если микросомы и митохондрии нормальных животных вызывали смерть кролика в течение 1—2 мин. при внутривенном введении в количестве 0,2—0,3 г, растворенных в 0,002 н. NaOH, то при тех же условиях препараты микросом и митохондрий, изолированные через 6—24 часа после облучения (1000 p), вызывали смерть в количествах 0,025—0,05 г, т. е. были в 5—10 раз более токсичны.

Все приведенные данные, несомненно, говорят о том, что под влиянием облучения животного или растения происходят глубокие нарушения белкового обмена, причем нарушается не столько суммарный синтез белков, сколько видоизменяется синтез отдельных специфических белков, начинают синтезироваться белки с измененной антигенной структурой, что может иметь исключительное значение, особенно в проявлении так называемых отдаленных последствий радиации.

### **Воздействие радиации на распад белков в облученном организме**

Многочисленные исследования действия ионизирующей радиации в летальных дозах на животный организм установили в качестве характерного симптома закономерно наступающую потерю веса животного. Эта потеря веса сопровождается с первого же дня облучения отчетливо выраженным отрицательным азотистым балансом [86—89]. В изменении общего баланса азота у облученных животных определенную роль играет пониженное всасывание аминокислот стенками тонкого кишечника [90], происходящее благодаря подавлению окислительного фосфорилирования в клетках кишечного эпителия [91], но ведущее значение имеет повышенное выделение эндогенного азота с мочей в первые же дни после облучения [87]. После облучения крыс, содержащихся на безбелковой диете при дозе 400 p, наблюдалось повышение эндогенных потерь азота на 36%, по сравнению с контролем [92].



При тотальном облучении людей  $\gamma$ -лучами и нейтронами [93] выделение аминокислот с мочой, по сравнению с контролем, увеличивалось в десять раз; больше всего выделялось гидроксипролина и гликокола. Увеличение выделения аминокислот начиналось через 12 час. после облучения. Крысы, получавшие бедную белками пищу (6% казеина), обнаруживали заметное увеличение выделения азота, тогда как крысы, получавшие богатую белками пищу (15—20% казеина), гораздо меньше выделяли азота после тотального облучения 450—500 *p* [94]. Увеличение выделения азота происходит за счет мочевины, что свидетельствует об усилении белкового катаболизма. В плазме облученных куриных эмбрионов (600 *p*) на 4-й день было найдено увеличение общего количества свободных аминокислот (в некоторых случаях в 3—4 раза по сравнению с контролем) и появление аномальных аминокислот [95]. У кроликов на 2-й день после облучения (1000, 1250 и 1500 *p*) было отмечено возрастание остаточного азота в крови [96].

Повышение азотсодержащих веществ в крови и моче было отмечено в ряде исследований: увеличивалось содержание мочевины в моче [97], тирозина в крови и моче [98], повышалось выделение аминокислот с мочой [99]. Увеличение аминокислот более чем на 40% по отношению к контролю отмечалось и в эпидермисе морских свинок, облученных  $\beta$ -лучами в дозе 3000 *p* [100]. У облученных животных отмечалась креатинурия [101]. Повышение креатина найдено и в плазме крови и в моче [102, 103], что, по-видимому, связано с нарушением гормональной регуляции [104].

Особенно интересно отметить значительное повышение содержания тирозина в крови после облучения. Исследования на ангиостомированных и облученных собаках (250 *p*), проведенные в лаборатории Горизонтова [105], показали двухфазный характер повышения содержания тирозина при облучении (рис. 98).

Все эти факты указывали на усиление тканевого распада белков под влиянием ионизирующей радиации. Усиленный распад белков тканей организма отмечался и при внутреннем облучении животных [106].

Увеличение распада белков могло быть следствием повышения активности протеолитических ферментов в облученных тканях. И действительно, Файнштейн и Бэллин [107], исследуя ткани печени, почек и кишечника у облученных животных, обнаружили значительную активацию карбоксипептидазы вследствие распада природного ингибитора. Была показана активация катепсина в облученной селезенке [108]. Об увеличении протеолитической активности в тканях, изолированных у облученных животных, по сравнению с необлученными, говорят исследования Токарской [109] и Тарусова [110]. По данным Токарской, наиболее значительно автолиз увеличивается после облучения кроликов (1300 *p*)



в селезенке и мышцах. Через час после облучения автолиз в мышцах (изучаемый *in vitro*) усиливается на 20%, а через 2 суток на 72% по отношению к контролю. Денервирование мышцы само по себе повышает автолитические процессы на 36%, а после облучения автолиз возрастает на 196% в мышцах и 111% в селезенке. В печени активация протеолитических ферментов менее

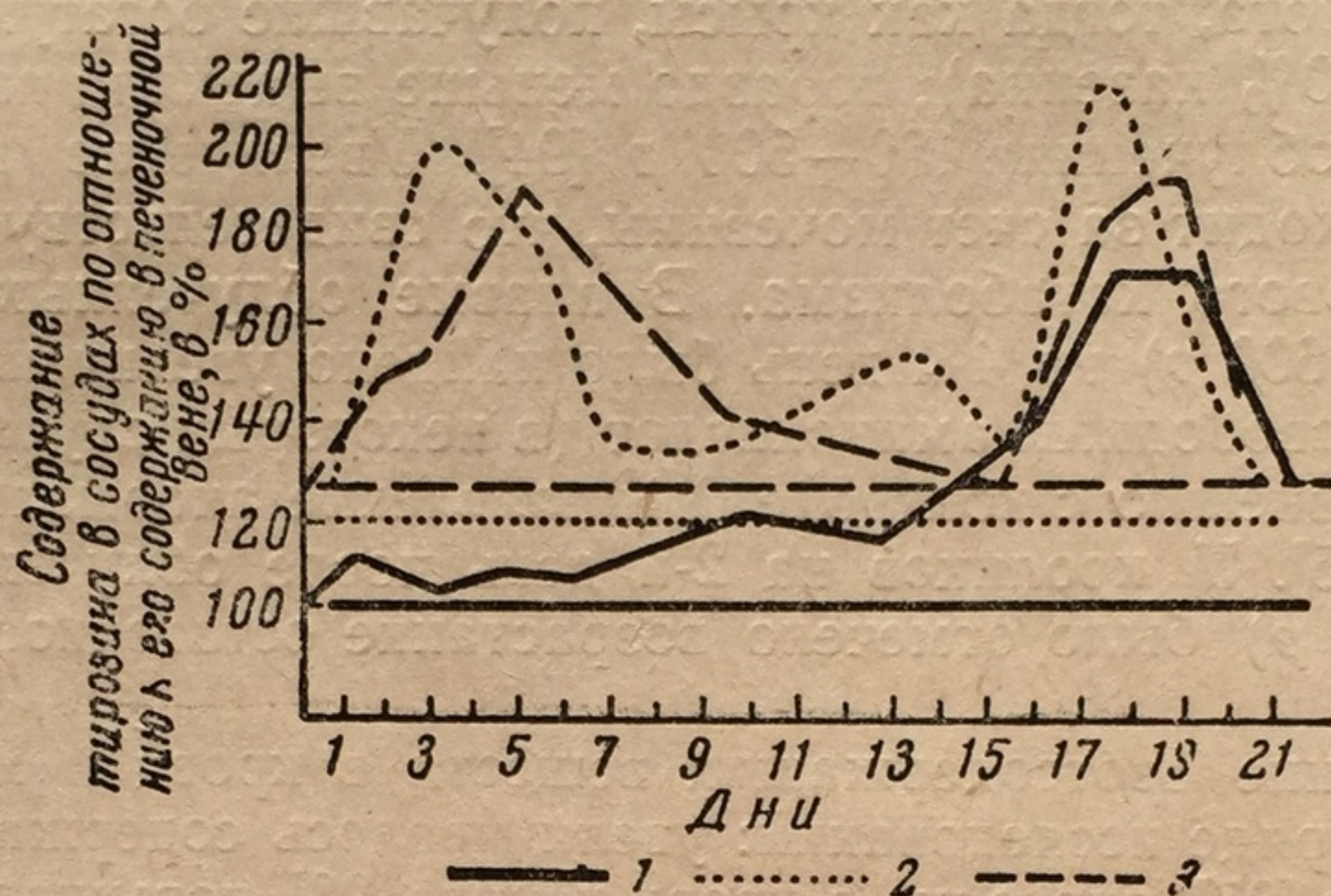


Рис. 98. Изменение содержания тирозина в различных сосудах собаки после общего облучения в дозе 250 p

1 — v. hepatica; 2 — v. femoralis; 3 — v. porta

выражена (14 и 48% через час и 2 суток соответственно). В почках не наблюдается такой активации [111]. Усиление протеолитической активности ткани после облучения также находится под контролем адреналовой системы, так как адреналэктомия перед облучением значительно снижала эффект усиления протеолитической активности печени [112].

Повышение активности протеолитических ферментов может быть непосредственным результатом поражения внутриклеточных мембран, обычно препятствующих воздействию фермента на субстрат. Де-Дюв [113] показал наличие в клетках гранул «лизозом», содержащих комплекс ферментов, в том числе и катепсин. Эти гранулы не выделяют активных ферментов, пока не повреждена их оболочка, мембрана. Повышение проницаемости под влиянием радиации может быть одним из существенных факторов активации протеолитических ферментов и усиленного распада тканевых белков. О том, что повышение проницаемости клеточных мембран играет существенную роль в потере тканями азотсодержащих веществ, показали исследования, применившие перфузию печени [114] и селезенки [115] лягушки для изучения белкового распада в этих органах.

Как видно из рис. 99, уже при дозе 400 p можно было наблюдать отчетливое возрастание азотистых веществ в перфузате и

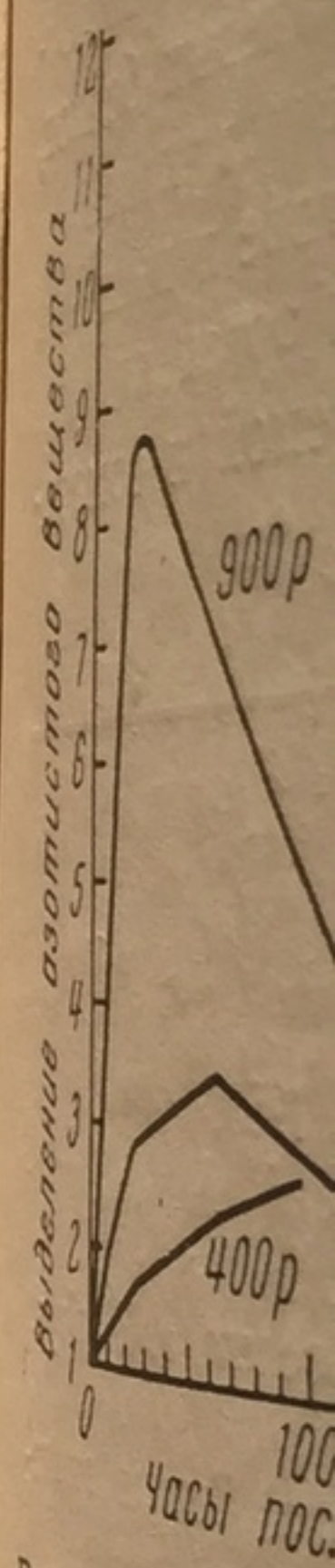


Рис. 99. Выделение азотистых веществ печенью облученных животных по сравнению с контролем

зированных гол...  
чения в дозе 60...  
наловой систем...  
приводило к та...  
томия не предо...  
меченного рядо...  
Усиление об...  
животных, неп...  
ряд особеннос...  
быстро после...  
облученных кр...  
через 10 час...  
Показано, не...  
не устраняет



экссудате печени. При дозе в 900 p через 10 час. после облучения наблюдается резкое повышение выделения продуктов белкового распада при неизменной морфологии ткани.

Аналогичные результаты были получены и с селезенкой [115]. Усиление распада белков, ведущее к быстрому повышению содержания мочевины в моче, могло быть обнаружено у катетери-

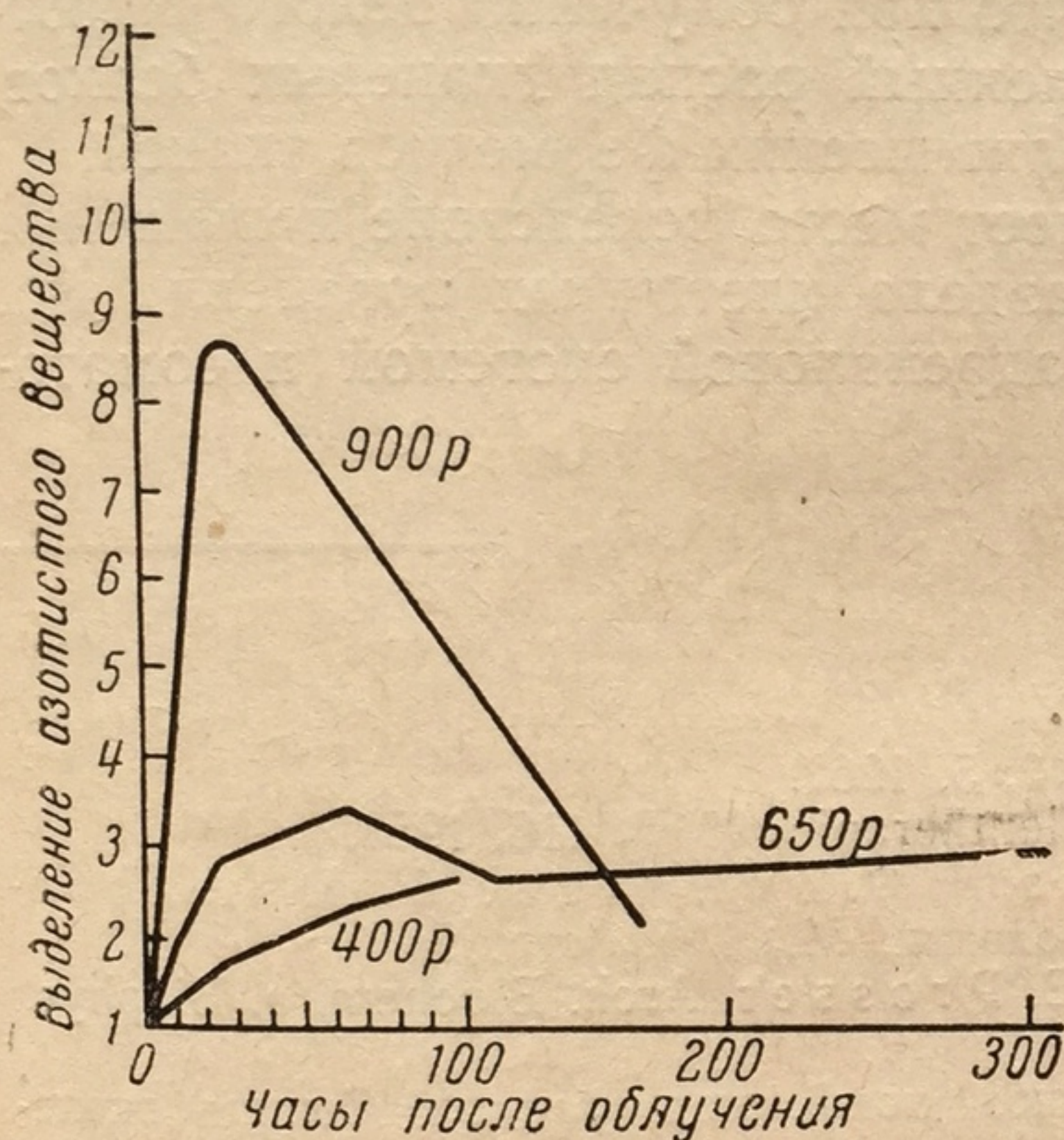


Рис. 99. Выделение азотсодержащих веществ печенью облученных лягушек по сравнению с контролем, равным единице

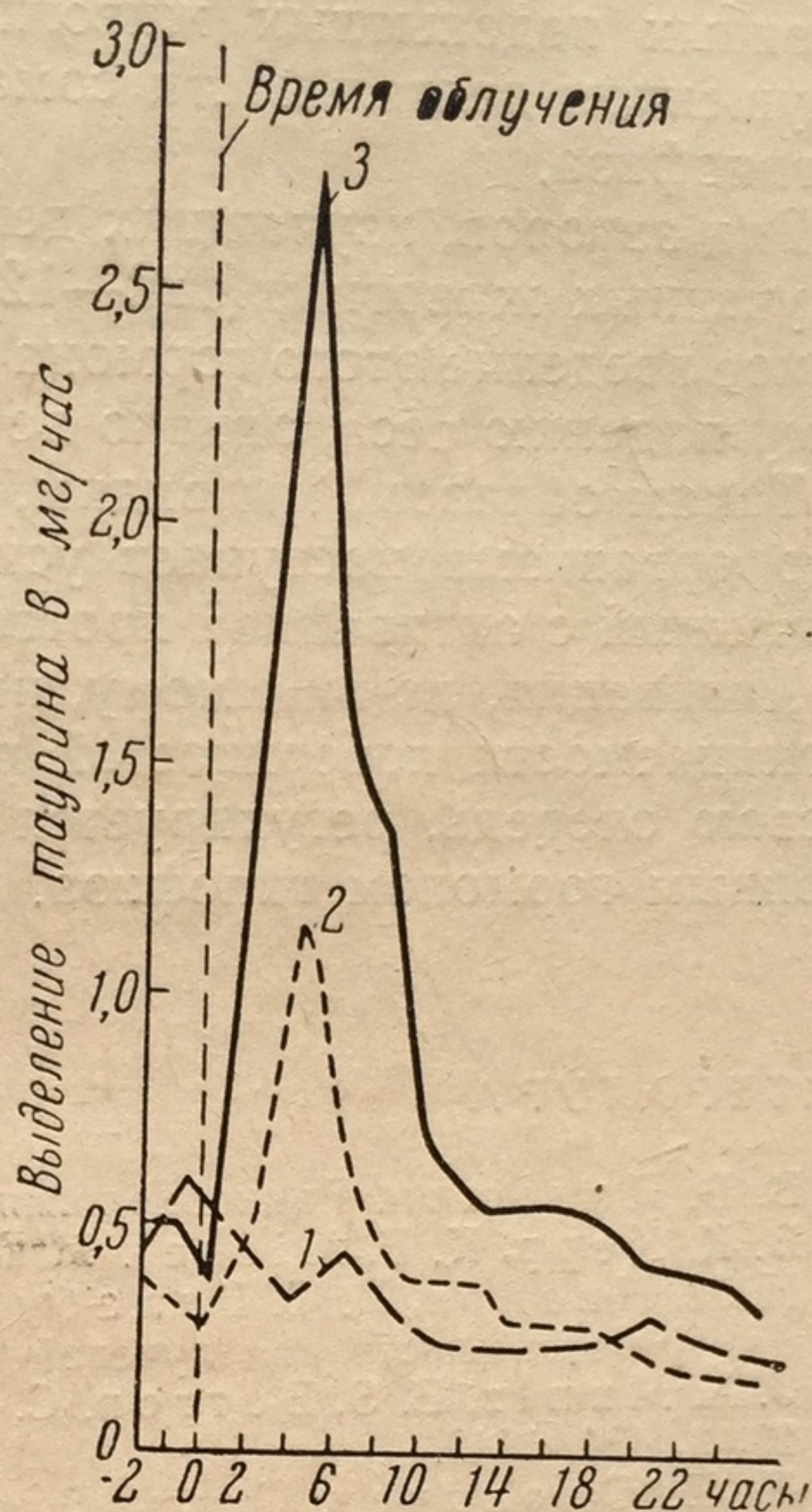


Рис. 100. Выделение таурина после облучения крыс в различных дозах  
1 — контроль; 2 — облучение 100 p;  
3 — 600 p

зированных голодающих крыс уже спустя 3—5 час. после облучения в дозе 600 p. [97]. Этот распад связан с активностью адреналовой системы, так как облучение после адреналэктомии не приводило к такому повышению. С другой стороны, адреналэктомия не предотвращала резкого увеличения таурина в моче, отмеченного рядом исследователей [116—120].

Усиление образования и выведения таурина после облучения животных, непосредственно связанное с распадом белков, освобождением и окислением SH-содержащих аминокислот, имеет ряд особенностей. Как видно из рис. 100, оно начинается очень быстро после облучения и достигает максимума через 5 час. (у облученных крыс), а затем быстро спадает. Вторичное облучение через 10 час. не вызывает вторичного подъема кривой [121].

Показано, что удаление селезенки, надпочечников, гипофиза не устраняет усиленного выделения таурина. Поджелудочная



железа необходима для усиления выведения таурина, хотя ее защита при облучении не изменяет обычной картины [121].

Усиленный белковый распад, вызывающий падение веса облученных подопытных животных, несомненно связан также и с нарушением деятельности соматотропного гормона передней доли гипофиза.

Ряд авторов, изучавших действие соматотропного гормона на облученных животных [122—125], приходит к выводу, что искусственное введение этого гормона после облучения приводит к меньшему падению веса, однако не предохраняя животных от гибели.

Таким образом, мы видим, что при облучении целого животного наступает усиленный распад тканевых белков, связанный с активацией протеолитических ферментов тканей.

Активация, по-видимому, имеет место вследствие повышения проницаемости поверхностей раздела клеточных органелл, что, в свою очередь, регулируется адреналовой системой и соматотропным гормоном гипофиза.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Пальмин. Радиобиология, 2, 5, 1962.
2. В. К. Керр, К. F. Michel. *Strahlentherapie*, 92, 3, 416, 1953.
3. И. И. Иванов, В. С. Балабуха, Е. Ф. Романцев, Т. А. Федорова. Обмен веществ при лучевой болезни. М., 1956, стр. 96.
4. J. A. Muntz, E. S. Barron, C. E. Prosser. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, 23, 3, 434, 1949.
5. Е. П. Смоличев. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиол. Секция эксперим. радиол., М., 1956, стр. 62.
6. О. В. Фастюченко, Б. М. Варшавский. Там же, 1956, стр. 51.
7. E. Bauer, H. Ott, S. Piller. *Strahlentherapie*, 94, N 1, 12, 1954.
8. D. H. Clouet, C. O. Ball, G. R. Meneely, P. Hahn. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, 87, N 2, 362, 1954.
9. W. E. Cornatzner, O. Engelstad, J. V. Davison, *Federat. Proc.*, 12, 192, 1953.
10. M. A. Fisher, M. Z. Magee, E. P. Coulter. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, 56, N 1, 66, 1955.
11. G. Höhne, H. A. Kunkel, R. Anger. *Klin. Wochenschr.*, 33, 284, 1955.
12. G. Meyniel, S. Mende. *Bull. Soc. chim. biol.*, 37, 1, 127, 1955.
13. R. Tertian, J. Charrier, D. Papee. *C. r. Acad. Sci.*, 238, 1, 98, 1954.
14. V. Verga, G. Giordano. *Boll. Soc. ital. biol. sperim.*, 30, 6, 614, 1954.
15. U. Westphal, S. G. Priest, Y. F. Stets, G. L. Selden. *Amer. J. Physiol.*, 175, 3, 424, 1953.
16. W. H. Goldwater, C. Entenman. *Amer. J. Physiol.*, 188, 409, 1957.
17. A. A. Werder, C. A. Hardin, P. Morgan. *Radiation Res.*, 7, 500, 1957.
18. A. D. Glinos, C. M. Berger. *Federat. Proc.*, 18, 53, 1959.
19. E. C. Goranson, E. A. Culloch, E. A. Cinitis. *Radiation Res.*, 12, 560, 1960.
20. O. Smithies. *Biochem. J.*, 71, 585, 1959.
21. C. Winkler, G. Paschke. *Radiation Res.*, 5, 156, 1956.
22. C. A. Leone, A. R. Hartnett, R. Crist, C. McBeith. *Radiation Res.*, 10, 357, 1959.
23. W. G. Glenn. *Radiation Res.*, 13, 691, 1960.



24. L. Pillemer a. oth. Science, **120**, 279, 1954; **121**, 732, 1955; Trans. N. Y. Acad. Sci., **17**, 526, 1955; J. Exp. Med., **106**, 99, 1956.
25. O. A. Ross a. oth. Federat. Proc., **14**, 418, 1955.
26. E. Linder. Strahlentherapie, **103**, 91, 1957.
27. А. А. Багдасаров с сотр. Проблемы гематологии и переливания крови, **2**, 3, 1958.
28. М. О. Раушенбах. Военно-мед. журн., **8**, 18, 1958.
29. И. Л. Чертков. Мед. радиол., **4**, 10, 75, 1959.
30. А. А. Багдасаров, И. Л. Чертков, М. О. Раушенбах, Н. Л. Самойлина, З. И. Шеремет. Мед. радиол., **4**, 3, 1959.
31. M. Landy, M. Shear. J. Exp. Med., **106**, 77, 1957.
32. А. М. Кузин, Л. Х. Эйбус, Н. Б. Стражевская, Докл. АН СССР, **102**, 2, 267, 1955.
33. J. Brachet. Arch. biol., **53**, 207, 1941.
34. T. O. Casperson. Naturwissenschaften, **28**, 33, 1941.
35. P. C. Zamechnik, J. D. Frantz. Cold Spring Harbor Sympos. Quant. Biol., **14**, 199, 1949.
36. P. C. Zamechnik, E. B. Keller. J. Biol. Chem., **209**, 337, 1954.
37. P. C. Zamechnik, E. B. Keller, J. W. Littlefield, M. B. Hoogland, R. B. Loftfield. J. Cellular a. Compar. Physiol., **47**, Suppl. 1, 81, 1956.
38. J. W. Littlefield, E. B. Keller. Federat. Proc., **15**, 302, 1956; J. Biol. Chem., **217**, 111, 1955.
39. R. B. Loftfield, A. Harris. J. Biol. Chem., **219**, 151, 1956.
40. E. F. Gale. Sympos. Biochem. Soc., 1956; Biochem. J., **55**, 11, 1953; **55**, 721, 730, 1953; **59**, 661, 1955; **59**, 675, 1955.
41. П. Замечник с сотр. В кн.: Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм. ИЛ, 1958, стр. 202.
42. Ф. Липман. Труды V Междунар. биохим. конгресса. I. Симпозиум, М., 1961, стр. 3.
43. G. Hevesy. Nature, **163**, 869, 1949.
44. Т. А. Федорова. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиологии. Секция эксперим. радиол., М., 1956, стр. 53.
45. T. N. Tahmisian, B. J. Wright, R. L. Devine. Radiation Res., **3**, 3, 352, 1955.
46. Z. H. Hempelman, S. Carr, D. Frantz, R. Masters, E. Lamdin, B. G. Lamson. Federat. Proc., **9**, 183, 1950.
47. А. С. Коникова, Т. А. Федорова, В. Г. Яковлева, В. В. Бочкарев. 1949. Цит. по кн.: И. И. Иванов и др. «Обмен веществ при лучевой болезни». М., 1956, стр. 89.
48. Н. М. Сисакян. Докл. на междунар. конф. в Женеве по мирному использованию атомной энергии, изд. АН СССР, М., 1955, стр. 137.
49. С. Н. Александров. Докл. АН СССР, **106**, 569, 1956.
50. W. H. Taliaferro, L. G. Taliaferro. J. Immunol., **66**, 181, 1951.
51. C. G. Craddock. J. S. Lawrence. J. Immunol., **60**, 241, 1948.
52. H. Kohn. J. Immunol., **66**, 5, 525, 1951.
53. L. Jacobson, M. Robson, E. Marks. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., **75**, 1, 145, 1950.
54. F. Dixon, S. Bukantz, D. Talmage. Amer. J. Pathol., **27**, 4, 679, 1951.
55. K. M. Stevans, I. Gray, M. S. Schwartz. Amer. J. Physiol., **175**, 1, 141, 1953.
56. P. R. Salerno, H. L. Friedell. Radiation Res., **9**, 478, 1958.
57. P. H. Maurer, F. J. Dixon, D. W. Talmage. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., **83**, 1, 163, 1953.
58. Y. Ogawa. Nature, **186**, 77, 1960.
59. J. A. V. Butler, P. Cohn, A. Crathorn. Advances in Radiobiol., Edinburgh. 1957. p. 33.
60. J. E. Richmond, M. G. Ord, L. A. Stocken. Biochem. J., **66**, 123, 1957.



61. Л. И. Ильина. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 44, 10, 53, 1957.
62. Л. И. Ильина, Р. В. Петров. Цитология, 2, 3, 296, 1960.
63. Н. Б. Стражевская. Биофизика, 5, 346, 1960.
64. В. М. Родионов, А. В. Чудиновских, Ж. А. Антокольская. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 47, 6, 43, 1949.
65. L. L. Miller, W. F. Bale. J. Exp. Med., 99, 125, 1954.
66. S. Roberts, A. White. J. Biol. Chem., 180, 505, 1949.
67. E. R. Gabrieli, C. H. Chang, Federat. Proc., 14, 53, 1955.
68. Л. Г. Прокопенко. Мед. радиол., 5, 4, 87, 1960.
69. Л. Г. Туточкина, Л. И. Поликарпова, И. И. Иванов, В. В. Шиходыров. 1955. Цит. по кн.: И. И. Иванов и др. «Обмен веществ при лучевой болезни». III, М., 1956.
70. Н. Д. Петрова. 1955. Цит. по кн.: И. И. Иванов и др. «Обмен веществ при лучевой болезни», III.
71. G. Bettendorf, H. Maass. Strahlentherapie, 106, 263, 1958.
72. A. Rothstein. Radiation Res., Suppl. 1, 357, 1959.
73. L. S. Barron, S. Spiegelman, H. Quaster. Gen. Physiol., 36, 631, 1953.
74. C. L. Brandt, P. J. Freeman, P. A. Stewenson. Science, 113, 383, 1951.
75. P. A. Swenson, A. C. Giese. J. Cellular a. Compar. Physiol., 36, 369, 1950.
76. H. Halvorson L. Jackson. J. Gen. Microbiol., 14, 26, 1956.
77. P. A. Swenson. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 36, 699, 1950.
78. Л. И. Ильина, Р. В. Петров. Цитология, 1, 3, 289, 1959.
79. Л. А. Зильбер, В. А. Артамонова, Г. М. Франк, А. Д. Снежко. Мед. радиол., 2, 17, 1956.
80. А. П. Невлер. Всб. Вопросы радиобиологии. Медгиз, 1956, стр. 256.
81. Е. Л. Ременникова. В. сб.: Вопросы радиобиологии, 1956, стр. 246.
82. Р. В. Петров, Л. П. Ильина. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 41, 4, 59, 1956.
83. Л. А. Зильбер, В. Б. Фрайман, И. Б. Збарский, С. С. Дебов. Докл. АН СССР, 65, 1, 97, 1949.
84. Н. Н. Клемпарская, Р. В. Петров. Радиобиология, I, 583, 1961.
85. В. А. Артамонова. Мед. радиол., 4, 8, 42, 1959.
86. J. Jehotte. C. r. Soc. biol., 148, 9, 941, 1954.
87. G. E. Gustafson, S. Koletsky. Amer. J. Physiol., 171, 2, 319, 1952.
88. E. H. Betz, J. Schotte. C. r. Soc. biol., 148, 9, 943, 1954.
89. К. П. Зыкова. 1949; Т. А. Федорова, М. А. Дарина. 1955. Цит. по кн. Иванов И. И. и др. Обмен веществ при лучевой болезни.
90. В. А. Шатерников. Мед. радиол., I, 4, 61, 1956.
91. В. А. Шатерников. Мед. радиол., 3, 3, 37, 1958.
92. C. Gross, R. Mandel. C. r. Acad. Sci., 231, 631, 1950.
93. S. R. Pelc, A. Howard. Acta radiol., Suppl. 116, 699, 1954.
94. J. White, B. E. Burr, H. T. Cool, P. W. David, M. S. Allyn. J. Nat. Cancer Inst., 15, 4, 1145, 1955.
95. E. L. Katz, E. L. Powers. Radiation Res., 3, 3, 331, 1955.
96. О. В. Фастюченко, Б. М. Варшавский. Тезисы Всесоюзн. конф. мед. радиологии. Секция эксперим. радиол., 1956, стр. 51.
97. R. E. Kay, J. C. Early, C. Entenman. Radiation Res., 6, 98, 1957.
98. A. J. Luzzio, G. Sutton, J. C. Kereiakes. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 97, 593, 1958.
99. C. G. Hunter. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 96, 794, 1957.
100. J. Tabachnick, C. Weiss. Radiation Res., 11, 684, 1959.
101. G. L. Haberland, K. Schreier, F. Bruns, K. J. Altman, L. K. Hempelman. Nature, 175, 4467, 1039, 1955.
102. C. M. Williams, G. M. Krise, D. R. Anderson, R. M. Douben. Radiation Res., 7, 176, 1957.



103. G. M. Krise, C. M. Williams, D. R. Anderson. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., **95**, 764, 1957.
104. G. Krise, C. M. Williams. Radiation Res., **11**, 3, 450, 1959.
105. П. Д. Горизонтов. Мед. радиол., **4**, 1, 5, 1959.
106. М. Я. Бояринцева. Мед. радиол., **3**, 4, 86, 1958.
107. R. N. Feinstein, J. C. Ballin. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., **83**, 6, 1953.
108. D. Leber, S. Sebek-Klemenc, L. Strouch. Second Internat. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy. Paper 2414, 1958.
109. З. Б. Токарская. Мед. радиол., **3**, 3, 26, 1958.
110. Б. Н. Тарусов. Труды Междунар. симпозиума по первичным эффектам действия радиации на клетку. М., 1960.
111. З. Б. Токарская. Мед. радиол., **4**, 3, 81, 1959.
112. Б. М. Граевская, Р. Я. Кейлина. Мед. радиол., **4**, 3, 21, 1959.
113. Chr. de Duvc. Bull. Acad. Méd. Belg. vith. Ser. V. **23**, 608, 1958.
114. M. Antonijevic, D. Leber, L. Strauch. Radiation Res., **11**, 642, 1959.
115. A. Dekleva-Zikar, L. Strauch. Radiation Res., **11**, 648, 1959.
116. R. E. Kay, C. Entenman. Federat. Proc., **13**, 520, 1954.
117. A. E. Kay, D. C. Harris, C. Entenman. Amer. J. Physiol., **186**, 175, 1956.
118. R. B. Mefford, H. H. Martens. Science, **122**, 829, 1955.
119. E. J. Katz, E. L. Powers. Argonne Nat. Lab. Quart. Rep. of Biol. a. Med. Res. Division, June 1955.
120. L. H. Hempelman, H. Lisco, J. G. Hoffman. Ann. Internal. Med. **36**, 444, 1952.
121. R. E. Kay, C. Enterman. Radiation Res., **11**, 357, 1959.
122. H. Selye, E. A. Salgado, J. Procopio. Acta endocrinol., **9**, 337, 1952.
123. L. E. Gordon, C. P. Miller, H. J. Hahne. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., **83**, 85, 1953.
124. H. Baxter, R. G. Randall, C. McMillon a. oth. Plastic a. Reconst. Surg., **16**, 387, 1955.
125. Д. Э. Гродзенский, А. Е. Рабкина, Э. Р. Баграмян. Пробл. эндокринол. и гормонотерапии, **4**, 71, 1958.



## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН

**Б**ольшинство реакций углеводного обмена не связано с определенными органеллами клетки и в силу этого относительно устойчиво к действию радиации.

Наиболее распространенные полисахариды — крахмал, гликоген, клетчатка — составляют основу опорных тканей растения и выполняют функции запасных питательных веществ. Под влиянием облучения полимерные молекулы претерпевают значительные изменения, которые, однако, не отражаются на последующих обменных реакциях. Все это приводит к весьма большой радиорезистентности многих реакций углеводного обмена. Только немногие полимеры углеводной природы, несущие специфические функции в организме, представляют собой исключение из этого общего правила (гиалуроновая кислота, гепарин и др.).

С другой стороны, в животном организме, углеводный обмен чрезвычайно тонко отрегулирован нейрогуморальной системой. Малейшие повреждения последней находят немедленное отражение в динамике углеводного обмена, что подчас создает впечатление чрезвычайной радиочувствительности углеводного обмена у высших животных.

Рассмотрение воздействия радиации на углеводный обмен у разных групп организмов помогает нам составить более правильное представление о непосредственном влиянии радиации на превращения углеводов в клетке и выявить те вторичные нарушения, которые возникают в сложном организме в результате воздействия радиации на нервные рецепторы или же на железы внутренней секреции.

Рассмотрим влияние ионизирующей радиации на основные биохимические процессы обмена углеводов.

### Влияние радиации на биосинтез углеводов

Центральное место в живой природе занимает фотосинтез углеводов из углекислоты и воды, идущий с использованием световой энергии солнца в зеленых листьях растений. Как это ни



странно, мы имеем весьма ограниченное количество исследований по влиянию ионизирующей радиации на фотосинтез.

Нисина, Накамура и Накаяма [1] наблюдали у *Chlorella ellipsoidea* падение фотосинтеза на 45,7% после 3-часового облучения нейтронами, получаемыми на циклотроне бомбардировкой бериллия дейтронами; у *Scenedesmus* после облучения в течение 30 мин. наблюдалась небольшая стимуляция фотосинтеза (7%), а после 2-часового облучения угнетение на 37%. Авторы указывают, что дыхание не менялось даже при 3-часовой экспозиции.

В наших исследованиях совместно с Сунь-Чи и Саенко [2] была изучена функциональная активность хлоропластов в целых неповрежденных листьях по их способности ассимилировать  $\text{CO}_2$ , меченную  $\text{C}^{14}$ , на свету. Было показано, что у радиочувствительных растений, таких как традесканция (*Tradescantia quianensis* Hort.) активность фотосинтеза при облучении в дозе 20 000 p не изменяется. При повышении дозы до 50 000 p можно было наблюдать уже спустя 3 часа после облучения угнетение фотосинтеза на 13%, которое прогрессировало со временем, давая через 24 часа угнетение на 68%, а через 48 час. — на 82%. Было отмечено, что наиболее радиочувствительными были хлоропласты молодых листьев, содержащих около 2,5% нуклеиновых кислот. Старые листья, содержащие в хлоропластах лишь 1,96% нуклеиновых кислот, были более устойчивы к действию радиации: в то время как в молодых листьях фотосинтез при дозе в 50 000 p падал через 48 час. на 82%, в старых при тех же условиях он снижался только на 54%.

Фотосинтез в листьях табака и фасоли оказался еще более радиоустойчив. Дозы в 50 тыс. p через 24 часа после облучения снижали фотосинтез на 18% с почти полным возвращением к исходным значениям через 48 час.

Наиболее устойчивым оказался фотосинтез в пшенице. По данным Цилл и Толберт [3], фиксация меченой  $\text{CO}_2$  снижалась на 70—80% лишь после облучения в дозе 100 000 p, причем дальнейшее увеличение дозы до 500 000 p не оказывало большего эффекта. Через 24 часа после облучения поглощение  $\text{CO}_2$  возвращалось к норме.

Однако хроматографическое исследование продуктов фотосинтеза тотчас же после облучения показало, что содержание  $\text{C}^{14}$  значительно возрастает в аминокислотах (глицин и серин) и уменьшается в сахарозе по сравнению с контролем. Следовательно, при больших дозах облучения меняется не только интенсивность фотосинтеза, но и направленность фотосинтетических реакций.

Васильев, Рыбалка и Цинь Су-юнь [4], исследуя накопление углеводов в листьях озимой пшеницы после облучения, подтвердили данные Цилл и Толберт, что облучение в дозах 100 000 p



не прекращает фотосинтеза, так как после облучения и двухнедельного произрастания отмечалось накопление моносахаров и сахарозы (19%) при расчете на сухой вес листовой ткани. Авторы не исследовали непосредственно фотосинтез, но было показано, что при облучении проростков пшеницы в дозах 3000—5000 *p* происходит 3—4-кратное накопление сахаров при расчете на сырой вес ткани.

Если мы примем во внимание, что дозы в 3000 *p* останавливают деление клеток у тех же растений, угнетая их рост, то мы должны прийти к выводу об относительно высокой радиостойчивости процесса фотосинтеза.

При дозах в 100 тыс. *p* фотосинтез был значительно ослаблен, но, однако, полностью не подавлен.

Также относительно радиостойчивы и процессы синтеза углеводов в животном организме, которые происходят в основном в печени и мышцах. При введении облученным мышам (2000—2500 *p*) глюкозы, меченной  $C^{14}$ , наблюдалось быстрое включение в гликоген печени, что говорило о полной сохранности механизмов синтеза гликогена [5]. То же наблюдалось и в печени крыс после облучения в дозе 1000 *p* [6, 7].

В ряде работ было отмечено повышение содержания гликогена в печени при облучении голодавших животных [8, 9]. Так, например, облучение голодавших мышей и морских свинок (1000—2000 *p*) приводило, по данным Луро [10], к усиленному новообразованию гликогена и повышению его содержания в печени. Здесь мы, по-видимому, имеем дело с образованием гликогена из гликогенообразующих аминокислот, появляющихся в результате белкового распада [11, 12]. Следовательно, вся сложная система ферментативных реакций, приводящая к синтезу гликогена, не страдает при летальных дозах облучения. Этим же объясняется наблюдавшееся повышение гликогена в печени, мышцах, легких и селезенке собак и крыс при остром полониевом отравлении [13].

Отмеченное в некоторых работах [14, 15] снижение синтеза гликогена в печени при введении глюкозы через рот, спустя 48 час. после облучения (крысы, морские свинки — 500 *p*), зависит, по-видимому, не столько от снижения гликогенообразовательной функции печени, сколько от резкого падения усвояемости, всасывания глюкозы стенками тонкого кишечника, как известно, страдающими в первую очередь при тотальном облучении [16]. Об этом говорят и данные Тороповой [17], показавшие на крысах, облученных в минимально смертельной дозе (650 *p*), быстрое образование гликогена в печени при внутривенном введении глюкозы (на 3-и сутки после облучения). На ангиостомированных собаках также была показана устойчивость гликогенообразующей способности печени в первую неделю лучевого заболевания с некоторым снижением в терминальный период [18].



При больших дозах облучения (2000 p) на голодающих крысах можно наблюдать резкое повышение содержания гликогена в печени через 3 часа после облучения (1930 мг% против 340 мг% в контроле), по-видимому за счет синтеза из эндогенных источников (аминокислоты, гликоген мышц) [11, 19]. Непосредственное измерение скорости синтеза гликогена из эфира Кори облученной тканью в опытах *in vitro* показало устойчивость этого процесса в первые часы после облучения. Только в более поздние сроки развития лучевого поражения при дозах 800 p можно было наблюдать при внутривенном введении глюкозы некоторое отставание в синтезе гликогена по сравнению с синтезом контрольных, необлученных животных [17].

Исследование гексокиназной активности печени, играющей ведущую роль в фосфорилировании поступающей в печень свободной глюкозы для последующего синтеза гликогена, показало [20], что при облучении крыс в дозе 500 p гексокиназная активность печени не изменялась спустя 2,24 и 48 час. после облучения. Только при дозах в 1000 и 2000 p можно было отметить снижение гексокиназной активности печени на 2—4-й день после облучения.

Таким образом, все имеющиеся данные говорят о значительной радиоустойчивости биосинтеза углеводов и об изменении биосинтетических процессов только в поздние стадии развития лучевого поражения в результате глубокого патологического изменения органа, в котором осуществляется синтез.

### **Влияние облучения на процессы распада углеводов**

Одним из характерных признаков лучевого поражения является быстрое обеднение гликогеном скелетных мышц, отчетливо показанное в нашей лаборатории в экспериментах на кроликах в дозе 8000 p ([21]). Этот распад, через 24 часа после облучения в дозе 8000 p ([21]). Этот распад, вероятно, является ответной реакцией на выделение надпочечниками адреналина и сопровождается повышением уровня гликогена в миокарде [22].

Следует, однако, подчеркнуть, что изменение содержания гликогена в тканях у различных животных сильно зависит и от вида животного и от его физиологического состояния.

Нимс и Гейсельсодер [23], исследуя влияние облучения на сытых крысах, получили следующую картину изменения содержания гликогена (см. стр. 224).

Усиление выделения адреноэргических веществ надпочечниками, достигающее максимума через 24 часа после облучения (500 p) [24], обычно приводит на 2-е сутки к резкому понижению содержания гликогена в печени крысы. Опыты на адреноэктомированных животных показали, что аналогичное облучение уже не



вызывает такого уменьшения гликогена [25, 26]. Уменьшение содержания гликогена в печени может явиться также следствием подавления особенно в более поздние сроки усвоения углеводов в желудочно-кишечном тракте и наступающего голодания животного [15].

Время после облучения при дозе 1000 p	В мг глюкозы на 1 г ткани	
	гликоген мышц	гликоген печени
Контроль	7,4	46
6 час	7,4	31
12 час	6,4	22
1-й день	6,4	19
2-й »	5,9	22
3-й »	5,4	35
4-й »	4,0	7

Общее снижение содержания гликогена сопровождается замедлением скорости его распада в печени, измеренной на голодающих облученных крысах [6, 19]. После облучения фосфоролиз угнетается [19] и значительно возрастает амилолитическая активность печеночной ткани [20], т. е. фосфоролиз гликогена частично сменяется амилолизом.

Падение гликогена было отмечено Шабаташом в нервных клетках зимних лягушек [27], а также после облучения (1000 p) лейкоцитов и тромбоцитов крови крыс [28].

Уровень гликогена в печени и мышцах, так же как и уровень сахара в крови, в основном определяется нейрогуморальной регуляцией. Быстро наступающие изменения в значительной мере вызваны реакцией гипофизо-адреналовой системы на облучение [23]. Сюда следует отнести неоднократно отмечавшееся в литературе быстро наступающее после облучения повышение сахара в крови [29—31], которое определяется запасами гликогена в момент облучения и реактивностью животного.

Так как реакции анаэробного и аэробного распада глюкозы достаточно устойчивы к действию радиации, то такие процессы, как брожение, гликолиз, тканевое дыхание, в основном мало нарушаются при облучении даже в смертельных дозах.

Наиболее лабилен при облучении анаэробный гликолиз. Снижение анаэробного гликолиза было прежде всего отмечено в опухолевой ткани при воздействии сравнительно массивных, локально примененных облучений [32, 33]. В первые часы после тотального облучения мыши (650 p) отмечалось резкое угнетение анаэробного гликолиза в гомогенатах селезенки и других тканей [34, 35].

С другой стороны, определение анаэробного гликолиза в коже крыс после локального облучения радиоактивным стронцием



(14 000 и 28 000 p) показало, что сначала наблюдается угнетение, а затем стимуляция этого процесса, особенно сильно через два дня после облучения [35].

Баррон с сотрудниками [36] отмечали, что в срезах печени крыс после внутреннего облучения плутонием (1000 p) анаэробный гликолиз был на 56% ниже контроля. О некоторой фазности этого процесса угнетения в результате включения больших количеств радиоактивных веществ дает представление рис. 101,

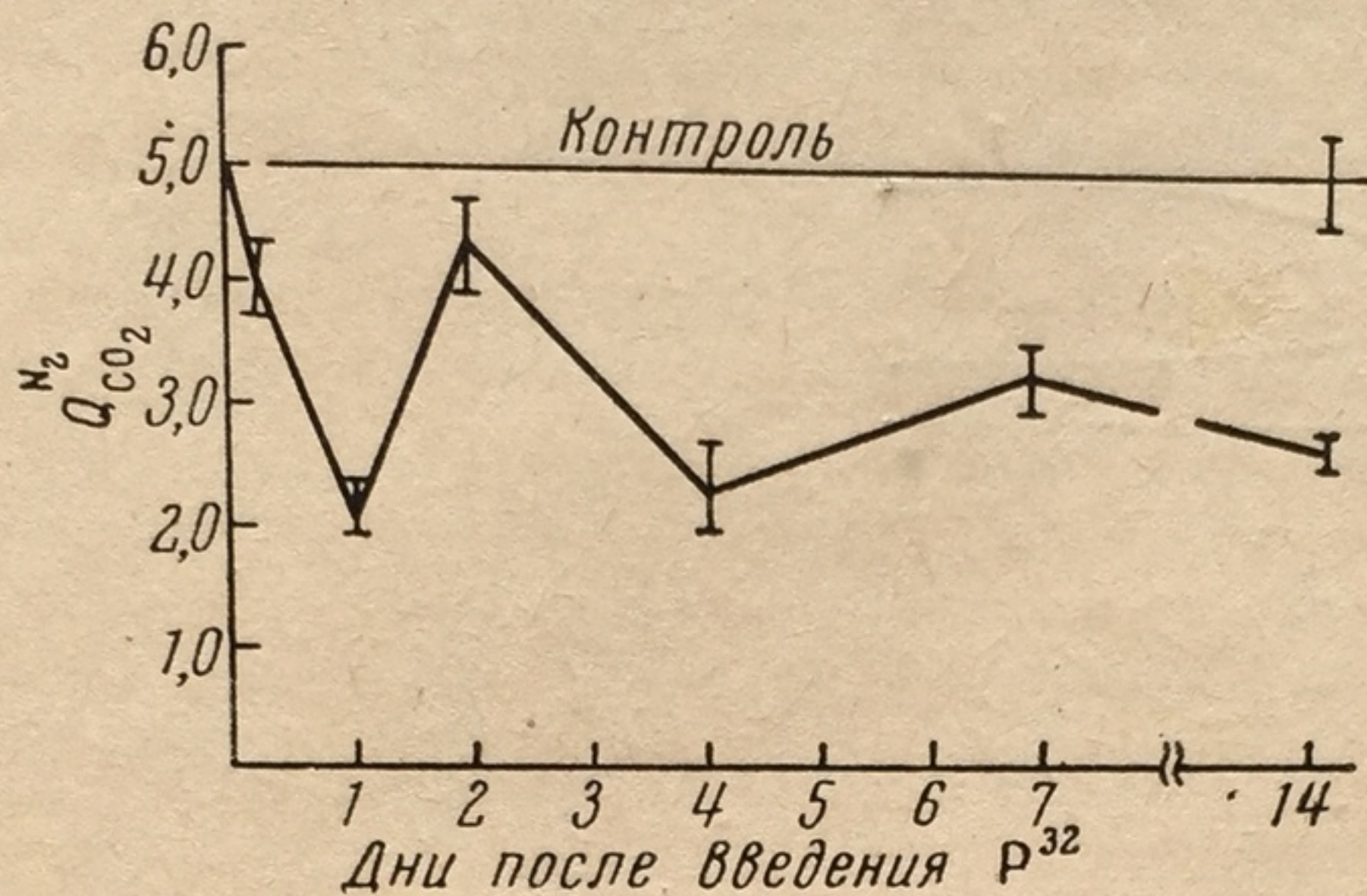


Рис. 101. Анаэробный гликолиз в срезах печени через различные сроки после введения 5,0 мккюри  $P^{32}$  на 1 г веса тела крысы

показывающий угнетение анаэробного гликолиза в срезах печени спустя различные сроки после введения 5,0 мккюри  $P^{32}$  на 1 г веса тела крысы [37].

Как видно из рис. 101, через 24 часа после введения  $P^{32}$  анаэробный гликолиз подавляется на 60%; через 48 час. процесс полностью восстанавливается, а затем снова подавляется вплоть до 14-го дня наблюдения.

Масс и Шуберт [38], исследуя действие ионизирующих излучений на клетки асцитной гепатомы Иосида, показали, что анаэробный гликолиз подавлялся незначительно, в то время как анаэробный гликолиз угнетался в гораздо большей степени. Дыхательный процесс практически не изменялось вплоть до применения доз в 20 000 p.

Варбург с сотрудниками [39] отмечают, что скорость анаэробного гликолиза в облученных клетках асцита понижается на 60% уже через 4 мин. после начала облучения. Зависимость дыхания, аэробного и анаэробного гликолиза от дозы облучения в течение первого часа после облучения для клеток асцитного рака Эрлиха, представлена на рис. 102 [40].

Опять резко выделяется угнетение анаэробного гликолиза. Окисление дифосфопиридиннуклеотида перекисью водорода, образующейся при облучении в столь высоких дозах, быть может



играет существенную роль в наблюдаемом подавлении анаэробного гликолиза [38].

Подробные исследования углеводного обмена, проведенные на дрожжевых организмах Мейселем [41], показали, что при дозах, полностью останавливающих деление и рост клеток (100—250 кр), скорость брожения и дыхания дрожжей почти не изменялась.

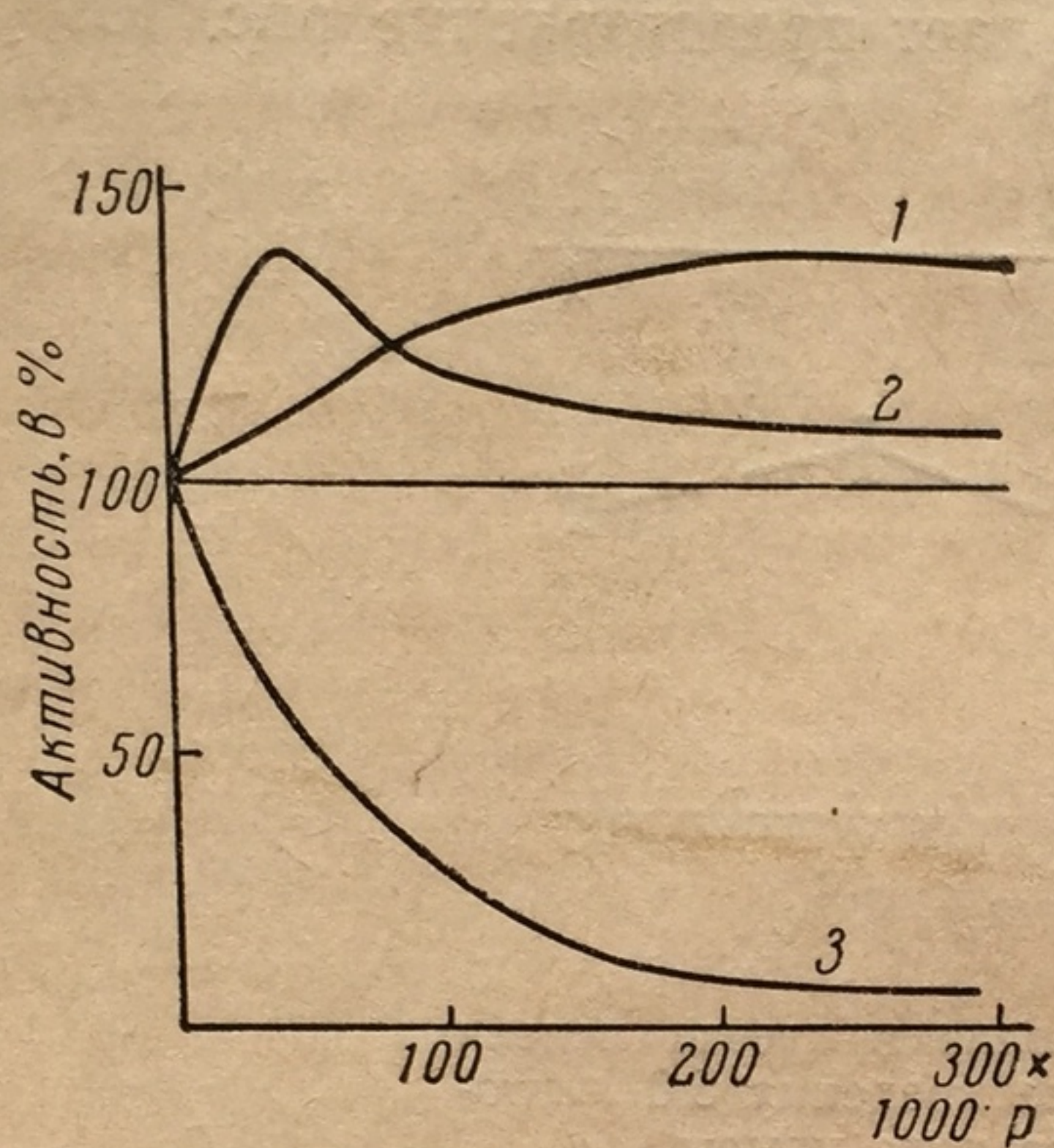


Рис. 102. Влияние ионизирующей радиации на активность дыхания (1), аэробного (2) и анаэробного гликолиза (3) клеток асцитного рака Эрлиха

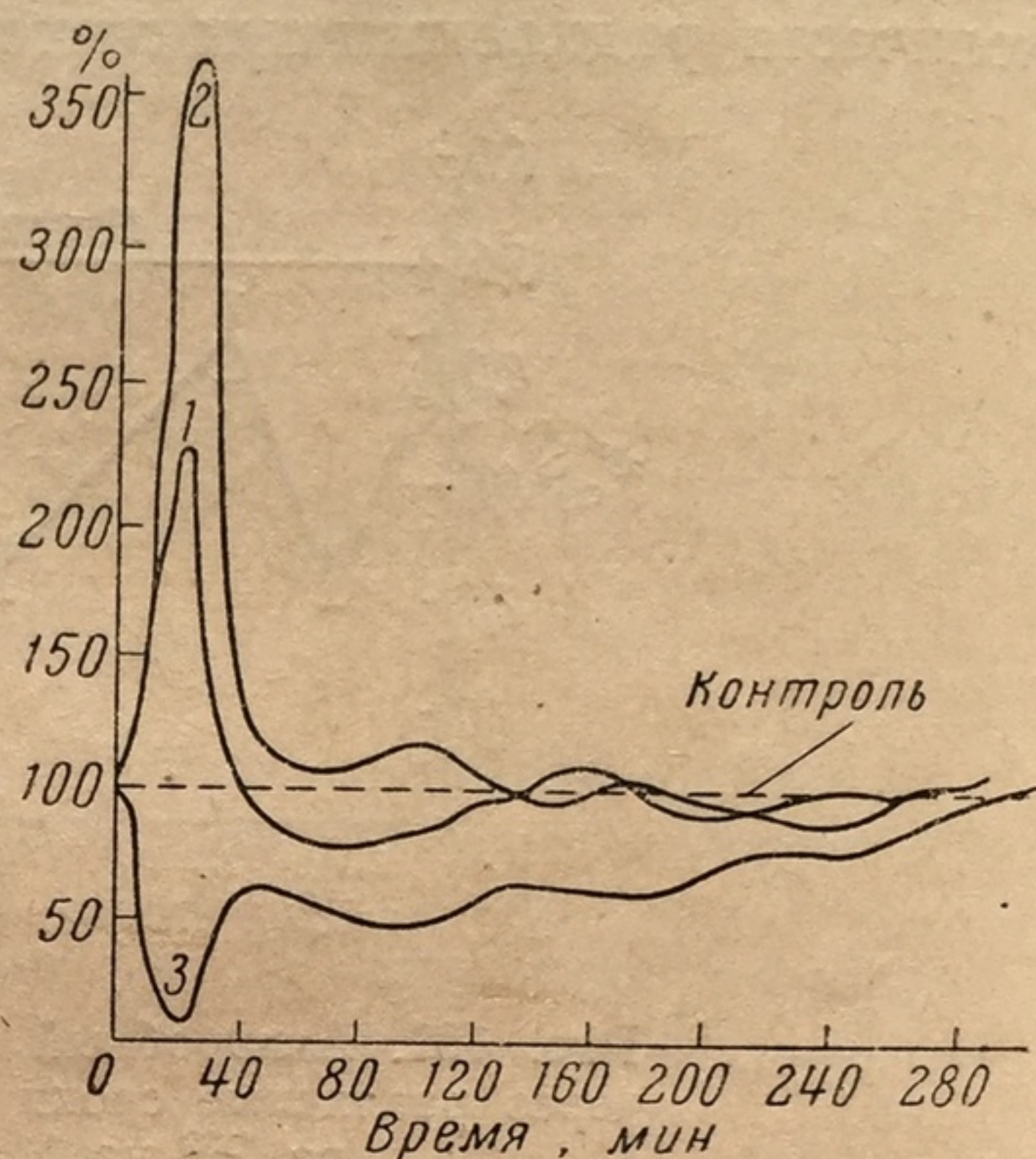


Рис. 103. Дыхание дрожжевых культур в присутствии радиоактивного фосфора

1 — 0,001 мккюри; 2 — 0,01 мккюри;  
3 — 10 мккюри

Облучение дрожжей рентгеновскими лучами даже при дозах 100 000 p в первые часы не влияло на интенсивность анаэробного гликолиза [42]. Брожение, как и дыхание дрожжей, угнеталось на 50% только после облучения при дозе 1000 кр, с дальнейшим снижением в ближайшие 24 часа [41].

Не было обнаружено каких-либо существенных нарушений углеводного обмена в мозгу облученных собак (600 и 1000 p) при определении содержания глюкозы и молочной кислоты в протекающей и оттекающей от мозга крови [43]. Локальное облучение массивными дозами мозжечка, как показали работы Минаева с сотрудниками [44], ведут к затормаживанию аэробной стадии усвоения глюкозы, накоплению в облученной ткани пировиноградной кислоты, что по-видимому, связано с уменьшением содержания витамина B<sub>1</sub>.

Дыхание теснейшим образом связано с распадом углеводов — основного субстрата дыхания. Исследование дыхания также показало его значительную устойчивость к действию ионизирующей радиации.



Только при воздействии весьма большими дозами можно было наблюдать временные сдвиги. Так, опыты с *Tetrahymena geleii* W. показали, что непосредственно после облучения дозой 300 000 p энергия дыхания  $Q_{O_2}$  снижалась на 30% по сравнению с контролем. Однако вскоре это различие пропадало, и через 24 часа после облучения дыхание даже усиливалось и несколько превышало контроль [45].

Дыхание амебы остается неизменным в течение 3—4 час. после облучения дозой 110 000 p [46].

При облучении яиц саранчи в стадии диапаузы дозой 2040 p не было обнаружено заметных отклонений дыхания от нормы. Также не изменялась интенсивность дыхания и у зародышей, выделенных из яйца. При дозах до 25 000 p подавления дыхания не наблюдалось и только при облучении 200 000 p интенсивность дыхания заметно снижалась [47, 48]. Интересно, что у зародышей на стадии диапаузы, когда наблюдается значительная устойчивость к ионизирующим облучениям, значительно возрастает содержание каталазы, что может быть одной из причин большой радиорезистентности (разрушение образующейся перекиси).

Шислей [49] показал, что дыхание яиц *Arbacia* как до, так и после оплодотворения не меняется при облучении дозой 43 000 p. Наблюдаемое рядом авторов понижение интенсивности дыхания спермы морских ежей при облучении в морской воде даже небольшими дозами ионизирующей радиации (при 100 p уменьшение потребления кислорода на 10%, при 20 000 p — на 66%) объясняется, по-видимому, образованием в морской воде стойких органических перекисей, не разлагаемых каталазой и вызывающих снижение дыхания [50].

Холлендер и Стапейльтон показали большую устойчивость дыхания у бактерий *E. coli* после их облучения в сублетальных дозах. Даже при таких массивных дозах, как 80 000 p, дыхание некоторое время не меняется и только затем начинает снижаться.

Быстро проходящие изменения интенсивности дыхания дрожжевых культур были описаны Власюк [51] при действии радиоактивных изотопов фосфора в концентрациях от 0,001 до 10 мккюри в 100 мл питательной смеси. (рис. 103). Как можно видеть из графика, малые дозы радиоактивного фосфора вызывают заметную интенсификацию дыхания в первые 20—30 мин. воздействия, а большие — некоторое угнетение. Но и те и другие изменения сравнительно быстро нивелируются, и дыхание становится близким к дыханию контрольных культур.

Грейф и другие [52] констатировали временную активацию дыхания у куриных эмбрионов после облучения дозами 250, 500 и 750 p. Эта активация носила ступенчатый характер, интенсивность дыхания значительно повышалась через 4 часа после облу-



чения, затем в интервале между 14 и 24 час. и, наконец через 42 часа; в остальное время интенсивность дыхания была такой же, как и в контроле. По-видимому, здесь происходит периодическая активация ферментных систем, обусловленная скорее определенным вторичным физиологическим ритмом, чем первоначальным действием излучения.

Изучение дыхания по потреблению кислорода у высших животных также приводит к выводу, что некоторая интенсификация окислительных процессов носит вторичный характер, проявляясь, как правило, в более поздние сроки развития лучевой болезни [53].

Так, облучение морских свинок дозой 250 *p* не приводило [54] к заметному изменению потребления кислорода. Не удалось также обнаружить изменения общего обмена по увеличению потребления кислорода у нормально питающихся крыс. При наблюдении в течение 10 дней облучение дозой 800 *p* не приводило к изменению потребления кислорода, по сравнению с контролем. При облучении голодающих крыс потребление кислорода было несколько большим, чем у контрольных животных, что указывало на некоторую интенсификацию обмена с развитием лучевого поражения [55].

Моль показал, что у крыс, облученных 300, 600 и 800 *p*, в течение первых трех дней потребление кислорода не отличалось от контроля; при дозе 800 *p* только на 4-й день обнаружилось повышение потребления кислорода на 22% [56].

Романцев и Иванов [57] отмечали некоторое снижение газообмена у облученных мышей (600 *p*) на терминальной стадии лучевой болезни; на 8-е сутки — снижение на 50%.

При исследовании дыхания на срезах тканей было показано, что смешанное облучение срезов  $\beta$ - и  $\gamma$ -лучами радия в дозах 2000—3000 *p* в течение 4 час. не приводит к заметным сдвигам дыхательных процессов [58].

Однако следует отметить, что в отдельных тканях облученного животного наблюдались заметные изменения интенсивности дыхания. Так, например, в костном мозгу сразу после облучения обнаруживался резкий подъем потребления кислорода, сопровождавшийся последующей депрессией (табл. 50).

Устойчивость дыхания срезов печени, почек, головного мозга мышей была обнаружена сразу после облучения в массивной дозе (60 000 *p*) [60]. Только на поздних стадиях развития лучевой болезни можно наблюдать закономерное снижение обмена отдельных тканей животного, связанное обычно со вторичными причинами, возникающими в организме в терминальный период заболевания. Иванов, Балабуха, Романцев и Федорова [61] приводят ряд данных, иллюстрирующих изменение дыхания. Например, на терминальных стадиях лучевой болезни дыхание срезов почек снижалось на 30—40, срезов печени на 30%.



Гибель клеток, инфекция, голодание — вот, по-видимому, основные причины снижения интенсивности дыхания.

Интересно, что добавление глюкозы к срезам почек значительно повышает дыхание срезов — что, опять-таки, говорит о незначительном поражении биохимических систем обуславливающих дыхание ткани.

Таблица 50

Дыхание костного мозга кролика после тотального [59] облучения при дозе в 800 р

	Потребление $O_2$
До облучения . . . . .	218
Сразу после облучения . . . . .	640
Через 48 час. после облучения . .	120
Через 72 часа после облучения . .	82

Выше, в главе о ферментах, мы подробно рассмотрели вопрос о радиационном поражении ферментативных систем и видели, что активность основных дыхательных ферментов почти не изменяется в облученных организмах.

С другой стороны, как мы видели выше, общая регуляция углеводного обмена в животном организме может быть сильно нарушена. Тесная сопряженность углеводного обмена с жировым приводит к значительным сдвигам окисляемости тех или иных субстратов в процессе дыхания, к изменению направленности реакций синтеза и распада. Поэтому при наблюдении скорости окисления того или иного субстрата в целом организме мы отмечаем иногда значительные отклонения от нормы.

Так, если мышам сразу после облучения (2000 р) ввести подкожно глюкозу, меченную  $C^{14}$  по всей углеродной цепи, и исследовать интенсивность выдыхания меченой углекислоты, то наблюдается, что облученные мыши, по сравнению с необлученными, выдыхают на 20% меньше меченой углекислоты.

В то же время содержание  $C^{14}$  в жире печени у облученных мышей увеличивается на 40—100%, что указывает на торможение окислительных процессов и переход углеводов в жиры. Эти изменения наблюдались уже в течение первого часа после облучения [62]. Замедление окислительного распада введенной меченой глюкозы приводило к некоторому возрастанию  $C^{14}$  и в гликогене печени [63].

Превращение глюкозы в жирные кислоты в облученном организме шло, по-видимому, обычным путем через пировиноградную кислоту. Это подтверждается экспериментами, показавшими, что  $C^{14}$ , находившийся как в первом, так и в шестом положении в молекуле глюкозы, одинаково быстро включался в жирные



кислоты печени голодающих облученных крыс (1000 *p*) по сравнению с необлученным контролем [64].

Торможение образования лимонной кислоты в результате облучения [65] также свидетельствует о задержке окислительного распада углеводов.

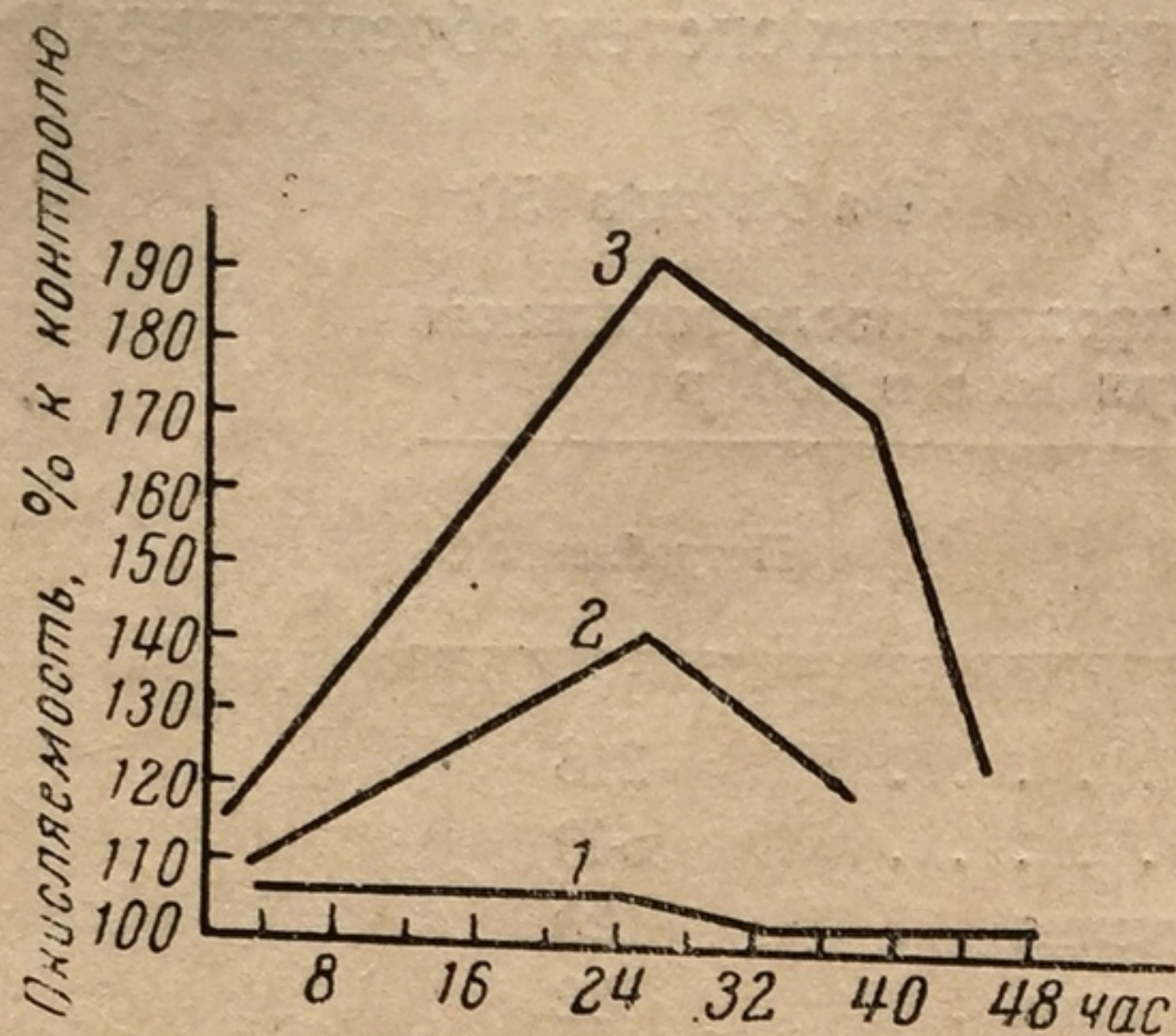


Рис. 104. Окисляемость гомогенатов *Vicia faba* в зависимости от дозы облучения и времени после облучения  
1 — облучение 100 *p*; 2 — 1000 *p*; 3 — 10 000 *p*

защите проростка приводило к усилению дыхания [70]. Значительное повышение поглощения кислорода воздуха наблюдалось нами совместно с Копыловым [71] в гомогенатах листьев *Vicia faba*, после их облучения.

На рис. 104 представлены результаты наших исследований, которые показали, что уже облучение в дозе 1000 *p* приводило к изменениям в исследуемой системе. Изменения возрастали со временем после облучения и достигали максимума через 24 часа. Однако дальнейшее исследование этого явления показало, что наблюдаемые изменения обусловлены активацией полифенол-оксидазной системы и в реакции окисления вовлекаются не столько углеводы, сколько фенольные производные [72].

### Влияние радиации на обмен комплексных полисахаридов

Большой интерес представляет исследование поведения в облученном организме высокополимерных комплексных полисахаридов, выполняющих специальные функции в соединительной ткани, клетках и жидкостях организма.

На первое место здесь выступает гиалуроновая кислота, в значительной мере регулирующая проницаемость соединительной ткани. Как мы видели выше, гиалуроновая кислота в растворах легко деполимеризуется под влиянием облучения.



О состоянии гиалуроновой кислоты в тканях при облучении животного организма судили большей частью косвенным путем, на основании увеличения проницаемости ткани. Барьерные функции подкожной соединительной ткани, лимфатических узлов резко снижались через 24 часа после облучения в дозах 500—1000 *p*. Снижение барьерных функций наблюдалось по увеличению проницаемости палочки Бреслау и по распространению торотраста, обнаруживаемому рентгенографически [73].

В другой работе [74] об увеличении проницаемости кожи кролика после облучения рентгеновыми лучами в дозе 250—2000 *p* судили по распространению вводимого подкожно дифтерийного токсина или краски. Увеличение диффузии краски, введенной крысам подкожно, наблюдалось вскоре после тотального облучения в дозе 750 *p* [75]. Подробно это явление было изучено Киселевым [76]. Опыты ставились на кроликах. При облучении правая половина спины кролика, а также спинной мозг защищались свинцовым экраном, а левая — облучалась. Через сутки в кожу обеих сторон вводили 0,5 мл 1%-ного раствора трипановой сини. После пяти дробных доз облучения (450, 336, 225, 112 и 56 *p*) наблюдалось распространение красителя в течение 20 час. Было показано, что в то время как доза в 56 *p* не влияла на проницаемость, при дозах в 112 *p* и выше проницаемость увеличивалась на 19% и больше, а доза в 450 *p* — на 100%. При дозе в 450 *p* возрастание проницаемости начиналось уже через 15 мин. после облучения и достигало максимума через 24 часа. Повышенная проницаемость держалась в течение 2-х суток, снижаясь до нормы через 4 дня; с 9—10-го дня начиналось понижение проницаемости, доходившее до 40% к 30-му дню.

Непосредственное снижение вязкости гиалуроновой кислоты под влиянием облучения наблюдалось в стекловидном теле глаза кролика при облучениях в дозах 500—700 *p*.

Несомненно, увеличение диффузии веществ после облучения связано с деполимеризацией мукополисахаридов тканей. Было показано также снижение содержания мукополисахаридов в ткани грудной опухоли после облучения [77] и в других тканях [78]. Интересно, что мукополисахариды изолированного пупочного канатика оказались значительно более радиоустойчивы [79]. Облучение в дозе 4100 *p* не изменяло метакромазию мукополисахаридов пуповины и только дозы 5600—7100 *p* приводили к потере способности мукополисахаридов к метакроматической окраске и способности мукополисахаридов к метакроматической окраске и отрицательной реакции Хэла с коллоидным железом. Реакция метакромазии глюкотеидов пупочного канатика также отсутствовала после предварительного воздействия ферментами (мезомуциназа), вызывающими деполимеризацию мукополисахаридов. Авторы считают, что исчезновение реакции метакромазии после облучения связано с деполимеризацией мукополисахаридов пупочного канатика под влиянием определенной дозы рентгеновых лучей.



Хорошо известно, что в регуляции обмена гиалуроновой кислоты играет большую роль специфический фермент — гиалуронидаза. Однако исследование как сыворотки крови, так и

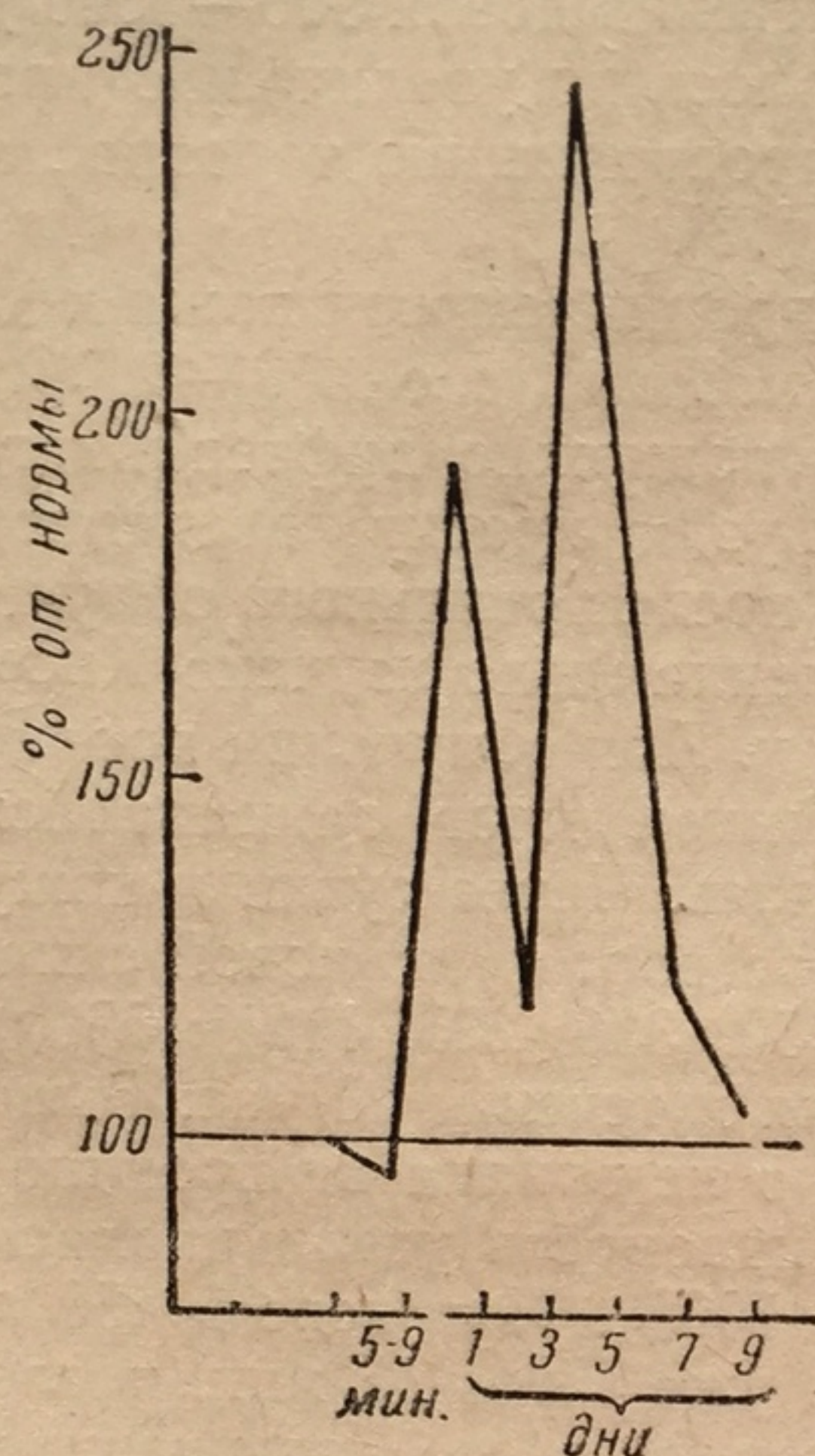


Рис. 105. Содержание сывороточного мукоида в сыворотке крови крыс после облучения при дозе 750 p

экстрактов из различных органов облученных животных не обнаружили увеличения активности гиалуронидазы после облучения [80]. Напротив, резкое возрастание мукополисахаридов в сыворотке крови вскоре после облучения, как это наглядно видно из графика (рис. 105), сопровождалось ростом антигиалуронидазной активности, возраставшей особенно заметно на 11—14-й день лучевого заболевания [80].

Повышение проницаемости тканевых барьеров, таким образом, вряд ли можно объяснять активацией гиалуронидазы. К этому же выводу приходит и Арлащенко [81], исследуя влияние облучения на проницаемость гемато-офтальмического барьера. Автор выдвигает гипотезу нервного механизма регуляции барьерных функций тканей, так как раздражение гассерова узла в центральной нервной системе приводит к такому же изменению барьерных функций глаза, что и облучение.

Повышение проницаемости соединительной ткани, стенок сосудов и клеток, столь характерное для воздействия ионизирующей радиации, может быть связано с частичным распадом полисахаридобелковых комплексов, что сопровождается значительным снижением их вязкости.

По-видимому, такое освобождение полисахарида от связи с белком проявляется не только на гиалуроновой кислоте, но и на других мукополисахаридах. В ряде работ было отмечено освобождение гепарина вскоре после облучения организма. Задержка во времени свертывания крови, отмеченная через 24 часа после облучения крыс в дозе 600 p, связана с усилением поступления в кровь гепарина [82]. Распад комплекса белок — гепарин под влиянием облучения и усиленное поступление гепарина в кровь отмечалось в ряде исследований [83, 84].

К сожалению, в настоящее время мы не располагаем данными о нарушениях обмена мукополисахаридов под влиянием радиации. Несомненно, что дальнейшие исследования в этой

области по-  
характерны  
ют внимани  
носных сос  
болизма ас  
химическ  
точного ве  
Говоря  
чевой боле  
дений по з  
температуре и  
на — полис  
Pseudomon  
декстрана  
казал, что  
лучении м  
мости: при  
при введен  
В наше  
липополиса  
показали,  
наблюдает

# ЛИТЕРАТУРА

1. J. Nisc...
2. A. M. K...
3. L. P. Zi...
4. И. М. В...
5. M. Loug...
6. J. K. De...
7. P. V. Vi...
8. M. N. R...
9. L. F. Ni...
10. M. Lou...
11. A. E. K...
12. 1956.
13. Lougea...
14. А. Н. Ш...
15. М. М. Г...
16. М. 1956.
17. Д. А. Го...
18. Г. П. Т...
19. В. П. Ф...



области помогут выяснить механизм нарушения проницаемости, характерный для лучевых поражений. В связи с этим привлекают внимание обнаруженные Поликарповой [88] в ткани кровеносных сосудов [аорты] облученных животных нарушения метаболизма аскорбиновой кислоты и других связанных с нею биохимических факторов, которые влияют на устойчивость межклеточного вещества соединительной ткани.

Говоря о роли комплексных полисахаридов в развитии лучевой болезни, нельзя не упомянуть и о ряде интересных наблюдений по защитному действию различных полисахаридов. В литературе имеется ряд указаний на защитное действие пиромена — полисахаридного комплекса, извлеченного из бактерий *Pseudomonas* [85], липополисахарида из *Salmonella Typhosa* [86], декстрана — полисахарида из *Leuconostoc* В. Блондаль [87] показал, что совместное применение пиромена и декстрана при облучении мышей в дозе 700 р приводило к повышению выживаемости: при применении препаратов до облучения — на 53%, а при введении их после облучения — на 28%.

В нашей лаборатории Сондак и Гладышев испытали ряд липополисахаридов, извлеченных из высших растений, и также показали, что при введении их крысам за 24 часа до облучения наблюдается защитный эффект.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. J. Nischina, H. Nakamura, H. Nakayama. Bull. Inst. Phys. a. Chem. Res., **19**, 1343, 1940.
2. А. М. Кузин, Сунь-Чи, Г. Н. Саенко. Биофизика, **3**, 325, 1958.
3. L. P. Zill, N. E. Tolbert. Plant Physiol., **30**, Suppl. XIV, 1955.
4. И. М. Васильев, Н. Д. Рыбалка, Цинь Су-юнь. Докл. АН СССР, **119**, 1, 62, 1958.
5. M. Lourau-Pitres. В кн.: «Radiobiology Symposia», ed. by Bacq a. Alexander. London, 1954, p. 225.
6. J. K. Denson, E. J. Gray. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., **82**, 4, 707, 1953.
7. P. V. Vittorio, W. P. Spence, M. Y. Johnston. Canad. J. Biochem. a. Physiol., **37**, 787, 1959.
8. M. N. Ross, J. O. Ely. J. Cellular a. Compar. Physiol., **37**, 163, 1951.
9. L. F. Nims, E. Sutton. Amer. J. Physiol., **177**, 51, 1954.
10. M. Lourau. C. r. Acad. Sci., **236**, 422, 1953.
11. A. E. Kay, D. C. Harris, C. Entenman. Amer. J. Physiol., **186**, 175, 1956.
12. Loureau Pitres M. Ark. kemi, **7**, 211, 1954.
13. А. Н. Шулятикова. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиологии. Секция эксперим. радиол. М., 1956, стр. 54.
14. Б. М. Граевская, Р. Я. Кейлина. В кн.: Вопросы радиобиологии, М., 1956, стр. 352.
15. M. Lourau, O. Lartique. Experientia Arch. Sci. Physiol., **4**, 197, 1950.
16. Д. А. Голубенцев. Мед. радиол., **3**, 4, 86, 1958.
17. Г. П. Торопова. Цит. по кн.: И. И. Иванов и др. «Обмен веществ при лучевой болезни». М., 1956, стр. 120.
18. В. П. Федотов. Мед. радиол., **3**, 6, 46, 1958.



19. Г. П. Торопова. Мед. радиол., 4, 5, 89, 1959.
20. Р. Я. Кейлина, Биохимия, 20, 4, 420, 1955.
21. А. М. Кузин, М. Силаев. Радиобиология, 3, 1, 1963.
22. Д. А. Голубенцев. Мед. радиол., 3, 3, 1958.
23. L. F. Nims, J. L. Geisselsoder. Radiation Res., 12, 251, 1960.
24. А. Ф. Маслова. Мед. радиол., 4, 12, 36, 1959.
25. Б. М. Граевская, Р. Я. Кейлина. Мед. радиол., 4, 3, 21, 1959.
26. R. W. McKee, M. Brin. Arch. Biochem. a. Biophys., 61, 390, 1956.
27. А. Л. Шабадаш. В сб.: Памяти Д. Н. Насонова, 1960, стр. 368.
28. А. Л. Шабадаш, Ю. Б. Хейфец. Архив анат., гистол. и эмбриол., 62, 1962 (в печати); Ю. Б. Хейфец. Вопросы радиобиологии, I, 87, Ереван, 1960.
29. F. G. Sherman, F. M. Dwyer. Federat. Proc., 15, 169, 1956.
30. H. E. Thompson, L. T. Steadman. U. S. Atomic Energy Com. Rept., 152. N. Y., 1950.
31. Е. Лондон, Н. Кочнева. Вестник рентгенол. и радиол., 10, 259, 1932; 14, 389, 1935.
32. H. G. Grabtree. Rep. Invest. Imp. Cancer Res. Fundat., 10, 33, 1932.
33. B. Holmes. Proc. Roy. Soc., B, 127, 223, 1939.
34. J. Hickman, G. Ashwell. Federat. Proc., 12, 66, 1953; J. Biol. Chem., 205, 651, 1953.
35. C. C. Lushbaugh, D. V. Hale. Cancer, 6, 4, 686, 1953.
36. E. S. G. Barron, R. Abrams, R. D. Finkle, R. P. Rhodes. U. S. Atom. Energy Commiss. Rep. MDDC-1653, 1946.
37. C. C. Irving, J. O. Perkinson. Radiation Res., 12, 597, 1960.
38. H. Maass, G. Schubert. Progr. Nucl. Energy, Ser. VI, 2, 225, 1959.
39. O. Warburg, K. Gavern, A. W. Geissler, W. Schroder, H. S. Gewitz, W. Volken. Naturwissenschaften, 48, 25, 1959.
40. A. Caputo, B. Giovanella. Radiation Res., 13, 809, 1960.
41. М. Н. Мейсель. В сб.: Биологическое действие излучений. М., 1955.
42. R. Scherman, H. Chase. J. Cellular a. Compar. Physiol., 33, 17, 34, 207, 1949.
43. С. В. Захаров. Мед. радиол., 4, 3, 77, 1959.
44. П. Ф. Минаев. Влияние ионизирующей радиации на центральную нервную систему. М., 1962.
45. H. Eichel, J. Roth. Biol. Bull., 103, 2, 300, 1952.
46. G. Barron, V. Flood. Argonne Nat. Lab. Rep. A. N. L., 4360, 101, 1949.
47. E. Slifer. Science, 107, 152, 1948.
48. E. Boeli. J. Cellular a. Compar. Physiol., 39, Suppl, 2, 19, 1952.
49. L. Chesley. Biol. Bull., 67, 259, 1934.
50. G. Barron, S. Dickman. J. Gen. Physiol., 32, 537, 595, 1949.
51. П. А. Власюк. Труды Сессии Ин-та биол. физики АН СССР, посвященной достижениям и задачам советской биофизики в сельском хозяйстве. Изд-во АН СССР, 1955, стр. 28.
52. D. Grief. J. Exp. Med., 97, 1, 131, 135, 139, 1953.
53. L. Kirscher. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 71, 463, 1949.
54. D. Smith, W. Buddington, M. Grenan. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 81, 1, 140, 1952.
55. D. Smith. Ibid., 78, 3, 774, 1951.
56. R. Molle. Quart. J. Exp. Physiol., 38, 69, 1953.
57. Е. Ф. Романцев, И. И. Иванов. 1953. Цит. по кн.: И. И. Иванов и др. «Обмен веществ при лучевой болезни». М., 1956, стр. 154.
58. H. Grabtree, L. Gray. Brit. J. Radiol., 12, 39, 1939.
59. I. Dinning, C. Meschan Keith, P. Day. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 74, 776, 1950.
60. P. Seviere. C. r. Soc. biol., 148, 9, 1954.
61. И. И. Иванов, В. С. Балабуха, Е. Ф. Романцев, Т. А. Федорова. Обмен веществ при лучевой болезни. М., 1956.
62. G. Hevesy, A. Forsberg. Nature, 168, 4277, 692, 1951.



63. Г. Хевеши. [G. Hevesy]. Радиобиология ИЛ, 1955, стр. 221.
64. J. G. Coniglio, D. L. Cate, B. Benson, G. W. Hudson. Amer. J. Physiol., 197, 3, 674, 1959.
65. K. P. Dubois, K. W. Cochran, J. Doull. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 76, 422, 1951.
66. S. Wolff, H. E. Suippold. Radiation Res., 3, 3, 358, 1955.
67. K. Mikaelson, H. Halvorsen. Physiol. plant., 6, 4, 873, 1953.
68. A. S. Sussman. J. Cellular a. Compar. Physiol., 42, 2, 273, 1953.
69. А. Рохлина. Диссертация, Л., 1953.
70. H. J. M. Bowen, P. A. Sawse. Radiation Res., 13, 395, 1960.
71. А. М. Кузин, В. А. Копылов. Биофизика, 5, 716, 1960.
72. А. М. Кузин. Труды Киевской радиобиол. конф. 1960; В. А. Копылов, А. М. Кузин, Л. М. Крюкова. V Междунар. биохим. конгресс, II, 431, 1961.
73. П. Н. Киселев. Вестник рентгенол. и радиол., 6, 8, 1953.
74. G. Prodi, R. Miceli. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, 3, 472, 1955.
75. A. C. Upton, W. D. Gude. Arch. Pathol., 58, 3, 258, 1954.
76. П. Н. Киселев. Вестник рентгенол. и радиол., 5, 3, 1953; сб.: Вопросы радиобиологии. М., 1956, стр. 210.
77. G. Pisani, A. Romanini. Tumori, 40, 4, 410, 1954.
78. R. H. Edgerley. Amer. J. Physiol., 174, 3, 341, 1953.
79. V. Verga, A. Cali. Radioterap., radiobiol. e. fis. med., 9, 1, 10, 17, 1954.
80. З. И. Шеремет, В. М. Мантейфель, М. О. Раушенбах. Мед. радиол., 4, 12, 25, 1959.
81. Н. И. Арлащенко. Мед. радиол., 5, 1, 42, 1960.
82. I. G. Allen. Science, 105, 388, 1947; J. Exp. Med., 87, 71, 1948.
83. J. W. Keley. Biol. Bull., 101, 233, 1951.
84. R. B. Mefferd, D. T. Henkel, J. B. Loffer. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 83, 54, 1953.
85. W. W. Smith, I. M. Alderman, R. E. Gillespie. Amer. J. Physiol., 191, 1241, 1957.
86. H. Blondal. Brit. J. Radiol., 30, 219, 1957.
87. H. Blondal. Radiation Res., 11, 582, 1959.
88. Л. И. Поликарпова. Биохимия, 25, 465, 1960; Бюлл. эксп. биол. и мед., 51, 3, 58, 1961; Радиобиология, 1, 8, 99, 1961.



## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА ОБМЕН ЛИПИДОВ

**В**оздействие ионизирующей радиации на липиды и липидный обмен в живом организме привлекало внимание исследователей с различных позиций [1]. Показанная в опытах *in vitro* легкая окисляемость под влиянием ионизирующей радиации, жиров и ненасыщенных жирных кислот с образованием перекисных соединений допускала возможность существования аналогичных реакций и при облучении живых тканей. Здесь можно было ожидать не только чисто химических реакций окисления, но и вмешательства соответствующих ферментов, изменяющих ход окисления липидов с образованием перекисей; количественные и качественные характеристики последних исключительно интересны с позиций их дальнейшей роли в развитии лучевого поражения.

Кроме того, мы знаем о важной роли, которую выполняют липиды и липопротеины в построении субмикроскопических структур клеток, мембран и оболочек клеточных органелл, регулирующих сопряженность и последовательность многочисленных ферментативных реакций в живой клетке. Соображения о большой значимости изменения структуры этих мембран в развитии лучевого поражения усиливают интерес к судьбе липидов и липопротеидов, образующих эти мембраны в органеллах клетки [2].

Хорошо известно, как тесно связан обмен липидов с углеводным обменом. Большая лабильность углеводного обмена, связанная, в первую очередь, с изменениями нейрогуморальной регуляции, немедленно отражается и на обмене липидов, их содержании в отдельных органах, скорости новообразования и распада. Возникающие нарушения обмена приводят в животном организме к изменению содержания липидов в различных тканях и в том числе в крови, что, помимо общего интереса, имеет и большое клиническое значение для диагностики общего состояния организма в процессе лучевого поражения.



Суммарное содержание липидов в организме животного, облученного в летальных дозах, постепенно снижается благодаря общему голоданию животного [3].

Исследования Бака на крысах [4], облученных в дозе 1000 *p*, и Романцева на мышах (700 *p*) [5] показали, что общее количество липидов в тушке уже на 3-и сутки после облучения составляло 50% нормы. На фоне общего снижения содержания липидов (в основном за счет исчезновения жира из жировых депо) наблюдалось характерное изменение содержания липидов в различных органах и тканях.

В многочисленных гистохимических исследованиях отмечалась быстро наступающая после облучения жировая инфильтрация печени и других органов [6—10]. В печени мышей на 3-й день после тотального облучения в дозе 700 *p* количество липидов возрастает на 110—192%.

Исследование, проведенное на кроликах, показало увеличение нейтрального жира в печени через 24 часа после тотального облучения в дозе 1000 *p* [11] более чем на 200%. Это возрастание нейтральных жиров в клетках печени, несомненно, связано с наступающим общим голоданием, исчезновением из печени запасов гликогена и усиленной мобилизацией жира из жировых депо. По мнению Эллингера, существенная роль принадлежит здесь и возникающим гепатотоксическим агентам [12] и нарушению гормональной регуляции жирового обмена [13, 14]. Несомненно, что с жировой инфильтрацией связано также снижение холинсодержащих фосфолипидов [15], падение содержания холина в тканях [16] и увеличение выделения холина с мочой непосредственно после облучения [17]. Следует отметить, что жировая инфильтрация печени проявляется после облучения не у всех животных. Так, у крыс после облучения в дозах 500 и 650 *p* общее содержание липидов в печени изменялось незначительно в различные сроки после облучения [3, 18]. В коже крыс, облученной локально  $\beta$ -лучами  $P^{32}$  (28 000 *p*), было отмечено падение содержания жира [19].

В костном мозгу кроликов содержание нейтральных жиров после облучения (1000 *p*) почти не меняется [11] в первые 24 часа.

Характерным для лучевого поражения животных является резкое возрастание суммарных липидов в плазме крови, так называемая липемия [20, 21]. У кроликов после тотального облучения в дозе 1000 *p* уже через 24 часа общее содержание липидов с 437 мг% повысилось до 1522 мг% [11]. Обычно острая липемия развивается в более поздние сроки после облучения [22].

На ангиостомированных собаках, подвергнутых облучению в дозе 300 *p*, Смирновым и Шатерниковым [23] было показано, что



через 2 часа после облучения содержание ненасыщенных жирных кислот в липидах крови несколько снижается, в дальнейшем же оно значительно повышается, с падением ниже нормы перед гибелью животных; колебания суммарного содержания липидов происходят в противоположном направлении.

Развитие липемии особенно характерно для тяжелого течения лучевой болезни и даже может служить тестом для прогноза заболевания [24]. В плазме значительно возрастает содержание липопротейнов [25—28].

Исследование липопротейнов на ультрацентрифуге показало, что в крови собак на поздней стадии развития лучевой болезни наблюдается снижение концентрации липопротейнов со скоростью седиментации 3 S и увеличение концентрации более легких липопротейнов (6 S, 16 S, 27 S) [28]. Здесь мы, по-видимому, встречаемся уже со значительными функциональными изменениями в печени, которая в первую очередь ответственна за формирование липопротейнов крови.

Повышение различных фракций липопротейнов в результате облучения было отмечено и в плазме развивающихся эмбрионов цыпленка в зависимости от стадии развития, во время которой проведено облучение. На 13—18-й день развития облучение вызывало [29] и увеличение количества триглицеридов в плазме развивающегося эмбриона [30].

Весьма лабильным оказывается содержание фосфолипидов в различные сроки после облучения в различных тканях животного организма.

Было изучено содержание фосфора фосфолипидов плазмы после общего облучения у крыс (250—5000 p), собак (500 и 1000 p), кроликов (680 и 1000 p), морских свинок (250—5000 p) и мышей (2250 p) [31, 32]. Было найдено, что общее облучение вызывает увеличение содержания фосфолипидного фосфора в плазме у всех исследованных животных. Наблюдались различия в величине этого эффекта, времени его проявления и зависимости от дозы облучения. У всех видов животных, за исключением собак, увеличение фосфолипидного фосфора было заметно в первые 24 часа после облучения. Самое большое увеличение было найдено у кроликов между 8 и 24 час. после облучения 680 и 1000 p. Более умеренное увеличение наблюдалось у мышей, крыс и морских свинок. У крыс максимум увеличения был показан на 2—3-й день после облучения. У собак в первые дни после облучения наблюдалось некоторое снижение фосфолипидного фосфора, а возрастание было заметно на 9-й день после облучения при дозе 400—500 p и на 3-й день после — 1000 p, т. е. за несколько дней до смерти животного.

У кроликов количество фосфолипидов в плазме увеличивалось почти вдвое через 24 часа после облучения (1000 p) [11]. Количество фосфолипидов в печени менялось очень мало [11, 15].



так же как и в костном мозгу [11], а в селезенке отмечалось незначительное снижение [15].

При исследовании влияния облучения (500 и 1000 *p*) на содержание холестерина в печени, легких, почках, надпочечниках, селезенке, скелетной мышце и цельной крови в различное время после облучения было показано [33], что облучение в дозе 500 *p* сначала резко снижает содержание холестерина во всех тканях, а затем на 7-й и 21-й день повышает его. Облучение в дозе 1000 *p* вызывает более раннее повышение содержания холестерина в тканях.

Вероятно, быстрое уменьшение количества холестерина в надпочечниках является непосредственным следствием увеличения активности гипофизарно-адреналовой системы [34, 35]. Повышение содержания холестерина в плазме собак было показано на 9-10-й день после облучения (500 *p*).

У кроликов было отмечено значительное увеличение количества холестерина в плазме крови (с 93 до 194 мг%) уже через 24 часа после облучения в дозе 1000 *p*. В печени и костном мозгу при этом содержание холестерина почти не менялось [3, 11, 19], как не менялось оно и в селезенке и почках крыс.

Исследования Иванова, Жулановой и Романцева [36] установили значительное повышение содержания ацетоновых тел в крови животных после облучения. У крыс (700 *p*) содержание ацетоновых тел в крови повысилось с 0,1—1,3 в норме до 6,4—8,3 мг% на 3-и сутки после облучения. У кроликов с 0,3—1 в норме до 30—40 мг% в терминальную стадию развития лучевой болезни.

В описанных изменениях, мы, по-видимому, имеем дело не только с перемещением имеющихся запасов липидов (как например в случае нейтральных жиров), но и с нарушением направленности обмена, новообразования этих веществ из общих предшественников. При этом существенную роль играет переключение обмена с углеводного в сторону липидного вследствие наступающего торможения окисления углеводов в цикле Кребса [37].

Взаимозависимость всех рассматриваемых синтезов представлена на схеме (рис. 106).

Усиленный распад белков и гликогена в облученном организме, торможение переаминирования ведет к увеличению содержания активного ацетила в метаболическом котле и усилению синтеза жирных кислот, стерина и увеличению количества кетоновых тел. О правильности этой концепции говорят многочисленные эксперименты с использованием меченых соединений.

Введение тотально облученным крысам (1500 *p*) ацетата натрия с  $C^{14}$  в карбоксиле показало почти десятикратное ускорение включения  $C^{14}$  в жирные кислоты липидов печени [38].



Было показано, что облучение голодающих крыс способствует включению ацетата-1- $C^{14}$  в жирные кислоты. Этот эффект был небольшим после 200 p, но увеличивался с повышением дозы до 2500 p. Через 24 часа в срезах печени голодающих крыс обнаружено такое же количество жирных кислот, меченных  $C^{14}$ , как и в срезах печени хорошо питающихся крыс. Через 48, 72 часа после облучения дозой 2500 p срезы печени голодающих крыс

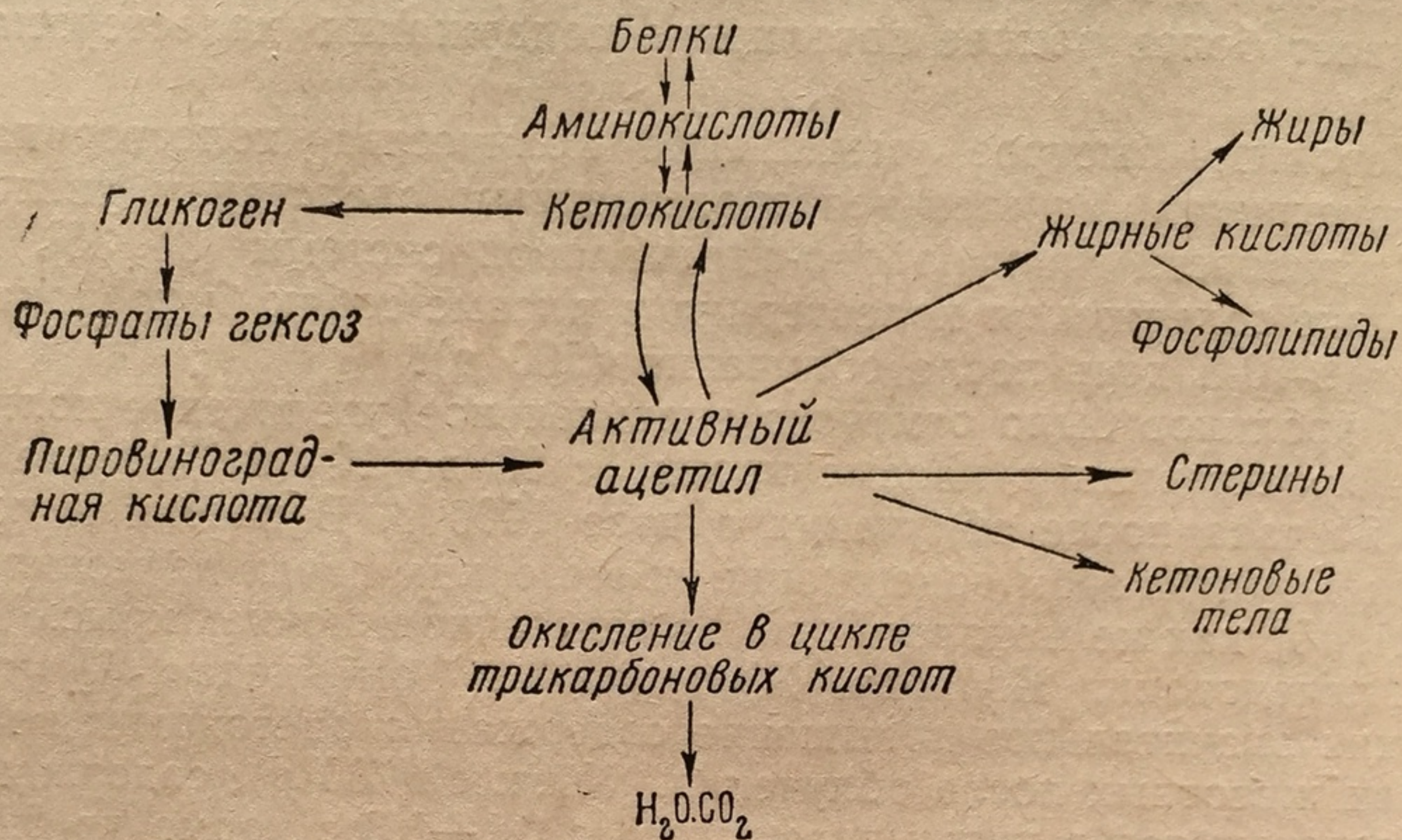


Рис. 106. Схема основных процессов обмена, связанных с синтезом липидов

образуют в два раза большее количество жирных кислот, чем срезы печени неголодающих. Интересно, что стимуляция липогенеза облучением наблюдается на срезах печени крыс, но не мышей [39]. Было проведено также исследование влияния тотального облучения (650 p) на включение в жирные кислоты различных органов крыс ацетата- $C^{14}$  [40], который вводился через 22 часа после облучения. Было найдено увеличение включения  $C^{14}$  в общие жирные кислоты печени и уменьшение включения  $C^{14}$  в жирные кислоты тонкого кишечника. Это наблюдение проверялось и было подтверждено на крысах, забитых через 20, 40 и 60 мин. после введения ацетата.

Увеличение включения ацетата в жирные кислоты и холестерина в облученном организме было показано и в других работах [41—45]. Повышение скорости включения ацетата в холестерин печени растет с дозой облучения (крысы) при одновременном снижении содержания концентрации холестерина на грамм ткани [43].

Облучение мышей в дозах 2000—2500 p вызывало немедленное увеличение включения  $C^{14}$  в липиды печени при введении подкожно глюкозы, меченой  $C^{14}$  [46].



Усиление включения ацетата в холестерин, наблюдаемое в первые дни, сменяется затем резким угнетением. Общее представление об изменении включения ацетата в различные липидные фракции в более поздние сроки после облучения дают эксперименты Мефферд, Уэбстер и Найман [47] с крысами после облучения в дозе 500 р (табл. 51).

Таблица 51

Изменение удельной активности липидов крысы после облучения в дозе 500 р

Вещество	Конт- роль	Удельная активность после облучения на день			
		3	6	9	15
Общие неомыляемые липиды . . . . .	228	215	212	242	99
Свободный холестерин . . . . .	297	314	196	255	77
Общие жирные кислоты . . . . .	113	113	216	242	115
Твердые жирные кислоты . . . . .	108	133	296	344	156
Жидкие жирные кислоты . . . . .	62	61	113	121	60

Отношение удельной активности

Твердые жирные кислоты холестерин . . . . .	0,36	0,62	1,51	1,35	2,02
Твердые жирные кислоты жидкие жирные кислоты . . . . .	1,74	2,18	2,62	2,84	2,60

Приведенные цифры говорят о значительных сдвигах в липоидном обмене, об изменении направления синтетических процессов, например, усиленное новообразование твердых жирных кислот. У мышей эти сдвиги были выражены менее резко [47, 48].

Переключение углеводного обмена на липоидный обусловлено не столько изменением нейрогуморальной регуляции в сложном животном организме, сколько внутриклеточным нарушением обмена под влиянием радиации. Об этом говорят исследования, показавшие близкие изменения обмена у облученных одноклепочных организмов. Гальцева, Мейсель, Селиверстова [49] при культивировании облученных дрожжей наблюдали резкое воз-растание содержания эргостерина в облученных клетках. Из рис. 107 [50] можно видеть, что уже при сравнительно небольших дозах облучения биосинтез стерина начинает возрастать, а при больших дозах увеличивается почти в два раза.

Мейсель и Гальцева считают, что усиленное новообразование стерина частично связано и с замедлением аминирования и переаминирования кетокислот, отмеченное ими у дрожжей после облучения [51].



В ряде работ было отмечено ускорение синтеза фосфолипидов в печени [52], мозгу [53] по увеличению включения в фосфолипиды меченых предшественников в первые часы после облучения животного [54] и, особенно, в более поздние сроки, в разгар развития лучевой болезни [55—57]. Детальное исследование включения  $P^{32}$  в фосфолипиды головного мозга, печени и селе-

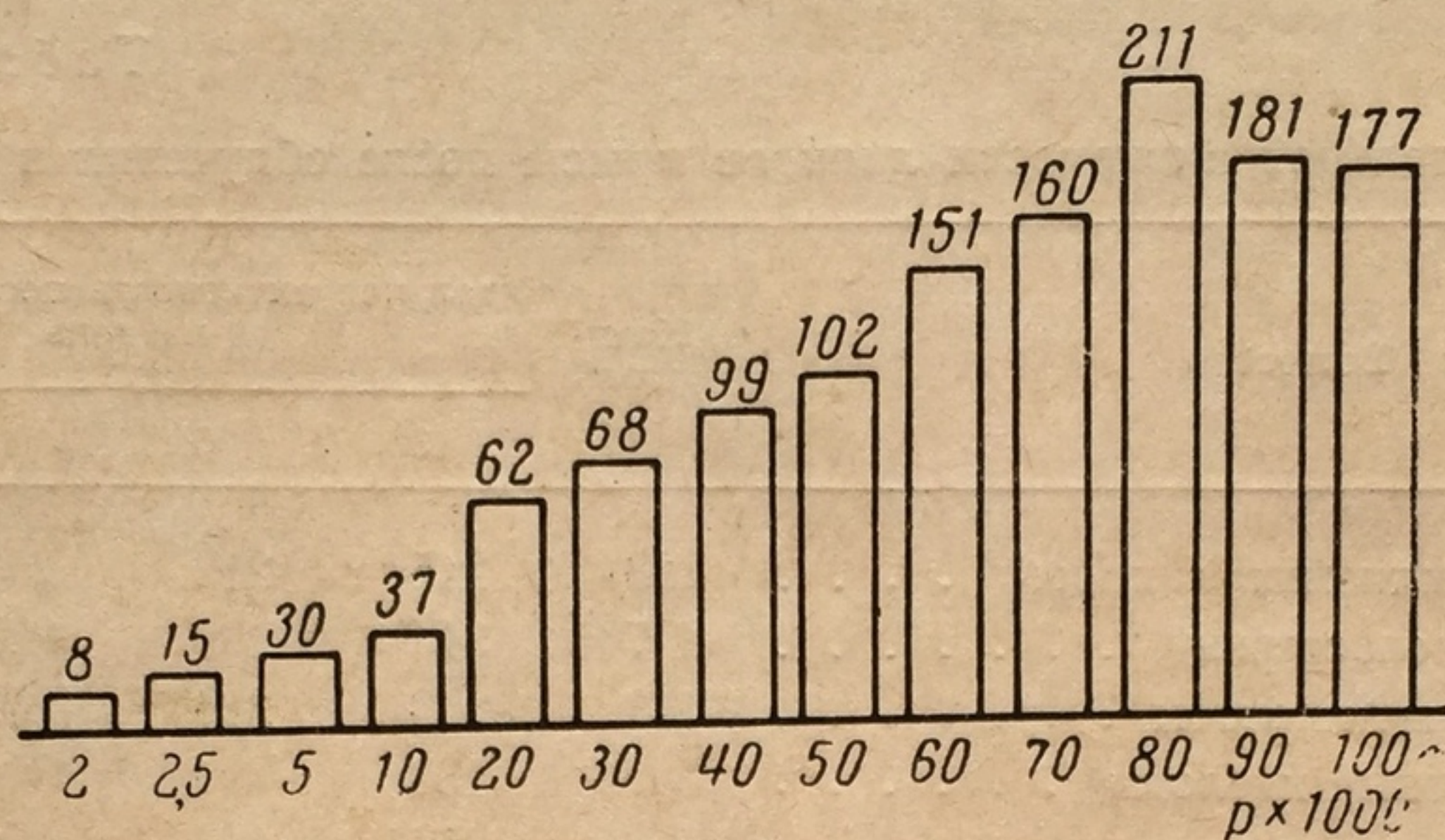


Рис. 107. Увеличение биосинтеза эргостерина у дрожжей в зависимости от дозы облучения (прирост эргостерина, в %)

зенки крыс после их облучения было проведено Четвериковым с сотрудниками [58—59]. Характер наблюдаемых ими изменений представлен на рис. 108. Авторы приходят к выводу, что тотальное облучение крыс в дозе 750 p не затрагивает существенно биохимические системы, ответственные за синтез фосфолипидов в центральной нервной системе, печени и селезенке. Возможно, что изменения метаболизма фосфолипидов в облученном организме частично связаны и с изменениями содержания ацетилхолина [60], которое значительно колеблется после облучения [61].

Особый интерес представляют внутриклеточные изменения липоидного обмена в связи с той ролью, какую выполняют липиды в построении тонких клеточных структур и, в первую очередь, мембран и оболочек, играющих важную роль в регуляции обменных процессов. Блохина [62] исследовала содержание липидов в митохондриях и микросомах клеток печени кроликов после их облучения в дозе 1000 p. Было показано, что в микросомах уже на 1-е сутки происходит резкое снижение количества липидного фосфора с 41,1 до 24,9% с одновременным возрастанием белкового фосфора с 38,4 до 54,2%. Содержание общих липидов в процентах к сухому весу микросом возрастает с 16,5 в норме до 25,9% через 24 часа после облучения (1000 p). Несколько меньшее увеличение наблюдается в митохондриях с 16,3 в норме до 20,6%; на 3—5-е сутки происходит некоторое снижение, почти достигающее до нормы (17,9%).



Отмечается также некоторое изменение состава липопротеидов митохондрий печени по мере развития лучевой болезни, о чем свидетельствуют данные, представленные в табл. 52 [63].

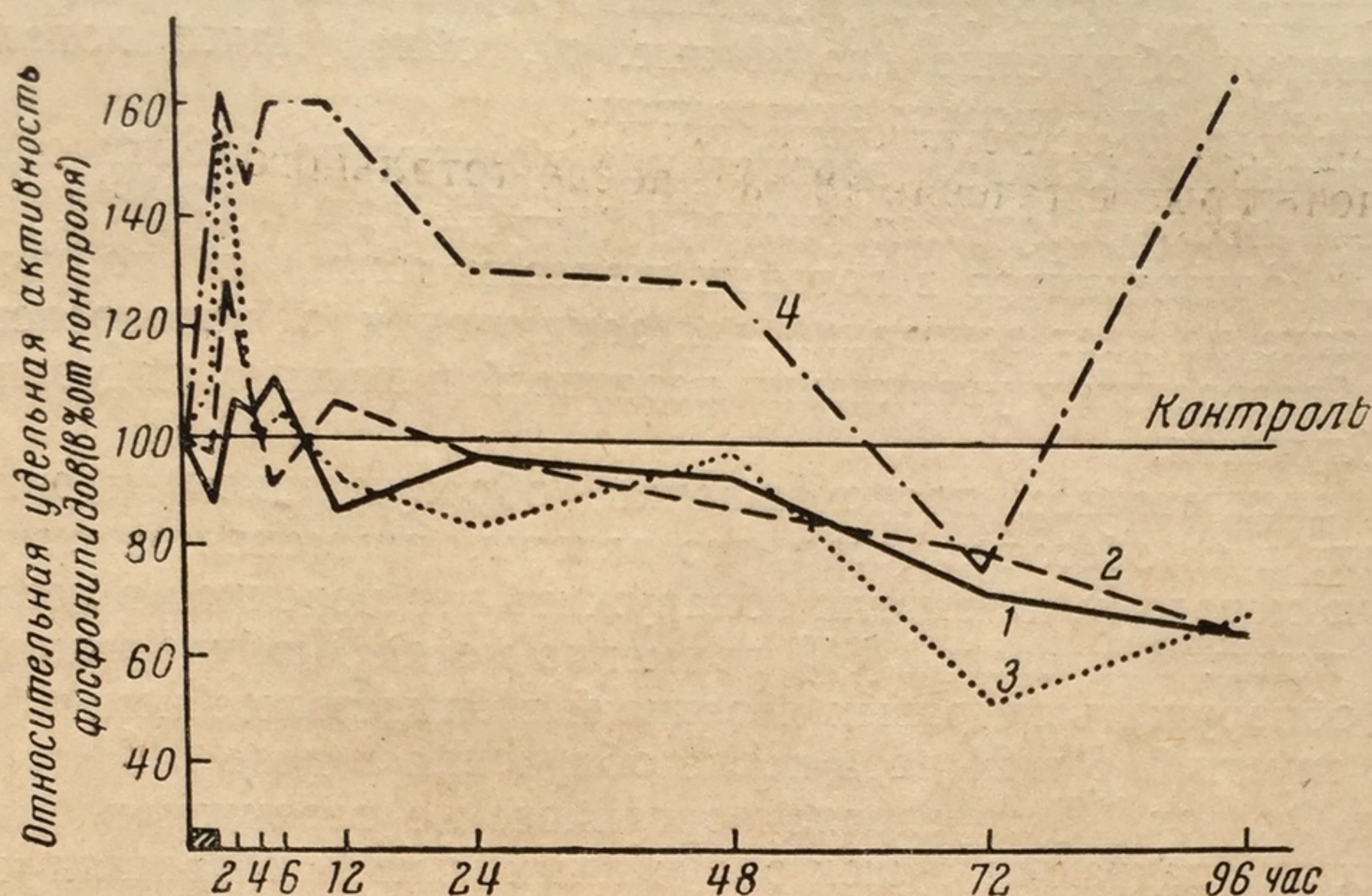


Рис. 108. Влияние общего облучения крыс (750 p) на включение  $P^{32}$  в фосфолипидную фракцию различных тканей  
1 — спинной мозг; 2 — головной мозг; 3 — печень; 4 — селезенка

Частичное разрушение сложного липопротеинового комплекса митохондрий может играть существенную роль в изменении проницаемости мембран митохондрий, образованных из липопротеидов.

Таблица 52

Состав липопротеидной фракции митохондрий клеток печени кролика после облучения в дозе 800 p

Время наблюдений	Азот белка	Фосфор белка	Общие липиды	Фосфолипиды, % от веса общих липидов
	% от сухого веса белка			
Контроль	7,26±0,3	1,4±0,1	42,9±1,9	21,1±4,0
1-е сутки	7,14±0,3	1,4±0,3	42,3±3,3	13,6±2,6
3-и »	7,88±0,2	1,6±0,3	38,7±2,1	22,2±3,8
5—6-е »	8,8 ±0,1	1,8±0,1	31,0±2,0	28,8±1,3

Демин и Блохина [64, 65] установили резкие неоднозначные сдвиги и других фракций липидов в отдельных структурных компонентах клеток печени и слизистой кишечника облученных крыс.



Значительные усилия ряда исследователей были направлены на обнаружение липидных перекисей при облучении животного организма. Дюбуло с сотрудниками [66], подвергая кожу крыс массивному облучению (до 20 тыс. *p*), обнаружили появление перекисей в ацетоновых экстрактах.

Авторы указали на возрастание количества перекисей во времени после облучения (максимум — 7-й день). Однако наличие свободных жиров в потовых железах кожи, в подкожной клетчатке не дает оснований для заключения о непосредственном образовании и увеличении перекисей в клетках под влиянием облучения.

О внеклеточном происхождении образующихся перекисей говорит и то обстоятельство, что авторы, применяя гистохимическую методику, не смогли обнаружить эти перекиси в исследуемой ткани. Гадлевский [67], применив метод Дюбуло, также не смог обнаружить жировых перекисей в эпидермисе кожи бедра крыс спустя 3, 6 и 24 часа после облучения в дозе 2400 *p*. Хорган и Филпот [68] определяли органические перекиси в бутаноловых экстрактах из тушек облученных мышей и пришли к выводу об увеличении содержания перекисей после облучения. Однако приводимые ими данные не поддаются однозначному толкованию. Критическое рассмотрение этих работ было дано Коломийцевой [69]. Обращает на себя внимание, что результаты с применением 2—6-дихлорфенолиндифенола получены авторами на очень ограниченном материале (5 мышей), в то же время известно, что содержание перекисей в липидах организма у контрольных животных колеблется в очень широких пределах; так, например, при определении количества перекисей в липидах сыворотки человека в норме и при некоторых заболеваниях средняя ошибка отдельных измерений, по данным Шауенштейн и сотрудников [70], колебалась в разных сериях опытов от 49 до 77%.

Остается необъяснимым резкое различие в содержании перекисей у нормальных животных при работе с 2-6-дихлорфенолиндифенолом и хлористым оловом.

В следующей опубликованной работе [71] авторы предлагают новый реактив для определения перекисей — бриллиант-крезилблау в щелочной среде, в присутствии меди и в анаэробных условиях. Однако они не приводят экспериментальных данных, упоминая только, что бутаноловый экстракт из тушек облученных мышей окислял этот реагент более энергично, чем из необлученных. Отсутствие количественных данных в этой работе также не позволяет прийти к каким-либо выводам.

Обращает на себя внимание, что на симпозиуме в 1958 г. [72] Филпот в основном ссылается на свои данные 1954 г. и не приводит новых количественных данных, лишь в дискуссии упоминая о том, что после облучения перекиси обнаруживаются



Таблица 53

Определение перекисей (в *мкМ* перекиси/г сырой ткани)  
в тушках и различных тканях крыс в контроле

	Тушка	Кожа	Кровь	Печень	Семенники	Мышцы	Кишечник
Серия А	0,08	1,12	0,06 0,18	0,00	0,00	0,03	0,03
	0,01	0,96	0,08 0,10	0,08	0,00	0,06	0,01
	0,06	0,70	0,07 0,01	0,00	—	0,02	0,02
	0,02	1,20	0,11 0,05	0,04		0,01	—
	0,05	0,89	0,06 0,00	0,02		0,01	
	0,04	0,54	0,02 0,00	0,17	Среднее 0,00		
	0,06	1,02	0,05 0,16	0,08			Среднее 0,02
	0,02	1,00	0,06 0,20			Среднее 0,02	
	0,01	1,26	0,00 0,07	Среднее 0,04			
	Среднее $0,03 \pm 0,02$	Среднее $0,94 \pm 0,24$	0,00 0,08 0,33 0,11 0,17				
			Среднее $0,09 \pm 0,07$				

	Тушка без кожи	Кожа
Серия Б	0,13	0,10
	0,10	0,10
	0,14	0,14
	0,04	0,16
	0,04	0,25
	0,03	0,08
	0,03	0,34
	0,06	0,25
	Среднее $0,07 \pm 0,04$	Среднее $0,15 \pm 0,07$

в печени крыс, в то время как вопрос об их появлении в крови остается неясным. Коломийцева в нашей лаборатории [73], используя весьма чувствительный метод определения перекисей по окислению восстановленного 2—6 дихлорфенолиндофенола, провела обширное исследование содержания липидных перекисей в тушке и различных органах крыс как в контроле, так и после облучения в дозе 1000 р. Полученные данные приведены в табл. 53 и 54.

Как видно из приведенных цифр, нам не удалось обнаружить достоверного увеличения перекисей липидов в тканях после облучения. Очень большой разброс цифр у разных животных заставляет с большой осторожностью относиться к утверждению некоторых авторов о якобы показанном ими увеличении. Так, например, Жуланова, Коровина и Романцев [74], используя сходную методику, не обнаружили изменения в содержании липидных перекисей в тушке мышей при облучении в дозе 650 р и



Таблица 54

Определение перекисей (в  $\mu\text{М}$  перекиси/г сырой ткани) в тушках и различных тканях крыс тотчас после облучения в дозе 1000  $\text{p}$

	Тушка	Кожа	Кровь	Печень	Семенники	Мышцы	Кишечник
Серия А	0,06	1,150	0,20 0,23	0,00	0,00	0,08	0,00
	0,06	1,24	0,17 0,14	0,00	0,00	0,02	0,00
	—	0,76	0,06 0,15	0,01		0,00	0,00
	0,03	—	0,12 0,16	0,02	Среднее 0,00	0,01	0,00
	0,01	Среднее 1,16	0,05 0,06	0,02		0,01	Среднее 0,00
	0,02		0,07 0,02	Среднее 0,01	Среднее 0,02		
	0,01		0,07				
	Среднее 0,03±0,02		Среднее 0,11±0,06				

	Тушка без кожи	Кровь
Серия Б	0,05	0,19
	0,07	0,18
	0,06	0,13
	0,04	0,11
	0,08	0,09
	0,03	0,22
	0,07	0,28
		0,22
	Среднее $0,06 \pm 0,01$	Среднее $0,17 \pm 0,05$

наблюдали очень незначительные сдвиги при дозе 1300  $\text{p}$ , а именно от  $0,83 \pm 0,03$  до  $0,98 \pm 0,035 \mu\text{М/г}$  при исследовании только 6 животных. Если принять во внимание, что незначительные изменения в методике определения изменяли значения определяемых перекисей в контроле с  $0,19 \pm 0,01$  до  $0,83 \pm 0,03 \mu\text{М/г}$  и что количество выявляемых перекисей быстро менялось в присутствии воздуха, то и здесь у нас нет уверенности в действительном возрастании липидных перекисей при облучении.

В работе Жулановой [75] приводятся аналогичные данные. Только на 3-и сутки после облучения, т. е. непосредственно перед гибелью животного, количество перекисей возрастает более отчетливо (до  $1,39 \mu\text{М/г}$ ). Однако и в этой работе небольшое количество животных и отсутствие указаний о получаемом разбросе данных не позволяет безоговорочно принять утверждения автора о двухфазном возрастании перекисей.

Журавлев и Ганасси [76], исследуя липиды, извлеченные из печени крыс после облучения в дозе 700  $\text{p}$ , сообщили о появлении в этих липидах перекисных соединений, количество которых возрастало на 4—6-й день после облучения. Однако сами авторы указывают на возможность окисления липидов при длительной экстракции в процессе выделения. Это окисление могло



идти тем энергичнее, чем меньшее количество антиоксидантов содержал жир. Уменьшение количества антиоксидантов в липидах слизистой кишечника после облучения было показано Барбером [77] и наблюдалось также и в липидах печени [76].

Вопрос об окислении липидов с образованием перекисей под влиянием облучения теснейшим образом связан с присутствием в ткани природных антиоксидантов и их изменением при облучении, на что указывали еще в 1953 г. Шевалье и Бюрг [78].

Известно, что при инкубации в присутствии воздуха гомогенатов мозга, печени, почек происходит быстрое аутоокисление с образованием перекисей липидов [79], в то время как гомогенаты слизистой кишечника [80] и костного мозга [81], несмотря на присутствие в них ненасыщенных липидов, не окисляются. Добавление гомогената слизистой кишечника к гомогенату печени угнетает образование перекисей [80, 81]. Это дало основание предположить наличие сильных антиоксидантов в тканях слизистой кишечника и костного мозга.

Барбер и Уилбур [82] показали, что под влиянием общего облучения животного антиоксидант в слизистой кишечника исчезает. Облучение крыс в дозе 800 р приводило к снижению антиоксидантной активности через 24 часа после облучения.

Оттоленджи и Бернгейм [83] показали, что одновременно в слизистой кишечника, примерно в такой же степени, угнетается активность фосфолипазы.

Авторы предполагают, что антиоксидантный эффект связан с активностью фосфолипазы, освобождающей свободные жирные кислоты из фосфолипидов. Эти кислоты связывают железо и тем самым препятствуют окислению ненасыщенных липидов. В подтверждение этой точки зрения авторы приводят данные экспериментов, показывающие антиоксидантное действие олеиновой и пальмитиновой кислот.

Таким образом, приведенные выше соображения заставляют с большой осторожностью относиться к утверждению некоторых авторов об образовании липидных перекисей в тканях животного организма в результате непосредственного действия радиации на липиды [84] и тем более приписывать этим перекисям ведущую роль в развитии лучевого поражения.

Тарусовым [85, 86] было высказано предположение о возможности возникновения в липоидной фазе клеток цепных реакций образования перекисей, идущих по типу разветвленных цепных реакций. Основываясь на опытах с облучением жиров *in vitro* в присутствии кислорода, где вслед за длительным индукционным периодом (несколько дней) после облучения наблюдалось быстрое возрастание перекисей, Тарусов допускает возможность возникновения аналогичных процессов и в живой облученной ткани. Наблюдая в некоторых экспериментах на животных возрастание липидных перекисей в печени облученных



животных (собаки, крысы) на 10-й день после облучения [87], автор склонен трактовать эти факты как результат длительно идущей радиохимической цепной реакции.

Нам кажется, что в отрегулированной системе живой клетки, где скорости процессов всецело определяются соответствующими ферментами, маловероятно предполагать наличие длительно идущих, химических цепных процессов, протекающих независимо от реакций обмена.

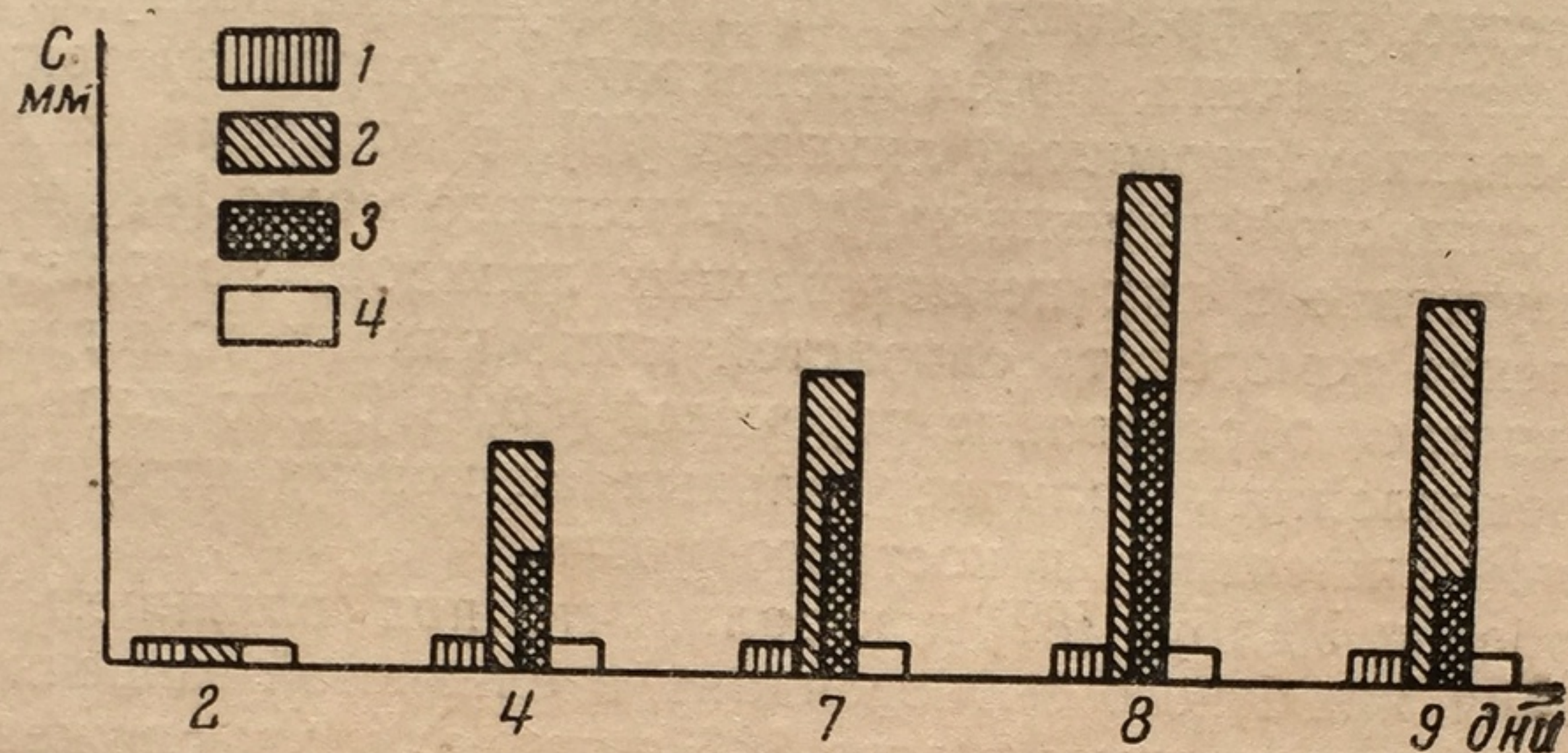


Рис. 109. Содержание перекисных соединений, определяемых полярографически в различных частях семени в разные дни прорастания

C — высота полярографических волн, в мм: 1 — эндосперм; 2 — щиток, 1-я волна; 3 — щиток, 2-я волна; 4 — зародыш

Это соображение, как нам кажется, требует дальнейшего подтверждения самих фактов накопления перекисей в тканях животного организма и рассмотрения этого явления в связи с изменением окислительных ферментативных процессов, происходящих к этому времени в исследуемой ткани.

В результате нормально протекающих ферментативных процессов в живой ткани интенсивно идут процессы окисления, в ряде случаев приводящие к появлению перекисных соединений. Особенно это характерно для растений. Как отмечалось ранее [90], под влиянием радиации происходят глубокие изменения в митохондриях, где сосредоточены основные ферментные системы, регулирующие ход и направленность окислительных процессов. Следовательно, можно ожидать, что сопряженность окислительных процессов в облученной ткани под влиянием облучения будет нарушаться, окислительные процессы будут извращены, и количество перекисей, образуемых в норме, вследствие этого резко изменится. Подобные процессы были обнаружены нами совместно с Березиной, Бронской и Языковой в растениях [91].

Определение перекисей проводилось полярографическим методом в бензольных вытяжках из эндосперма, щитка и зароды-



ша прорастающих семян кукурузы, после облучения семян  $\gamma$ -лучами  $\text{Co}^{60}$  в смертельной дозе (40 000 p).

Как видно из рис. 109, при прорастании контрольных необлученных семян можно наблюдать закономерное возрастание количества перекисных соединений только в щитке, т. е. ткани, богатой митохондриями, в которой в процессе прорастания идут интенсивные обменные, окислительные процессы.

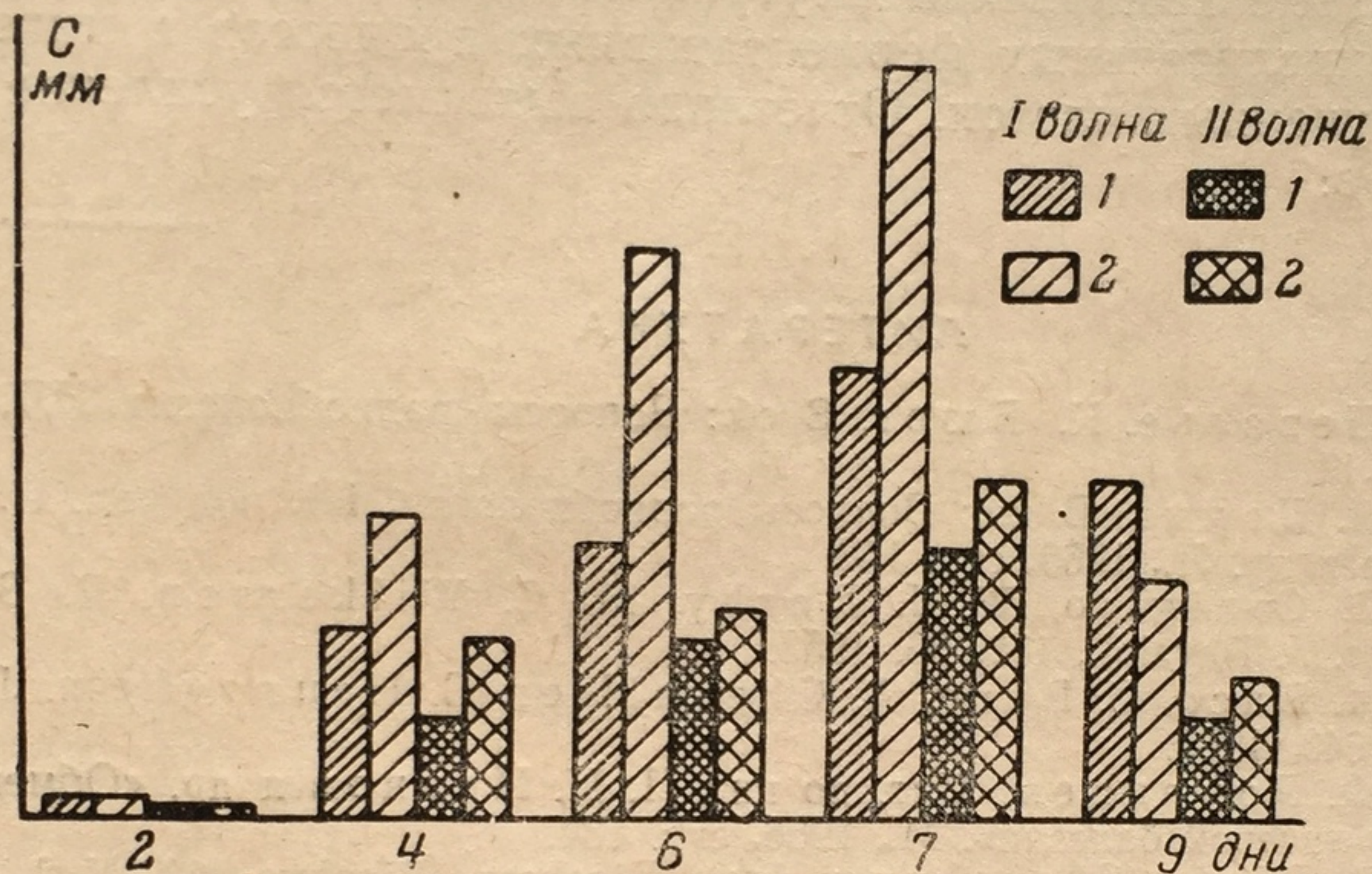


Рис. 110. Содержание перекисных соединений, определяемых полярографически в щитках семян кукурузы в разные дни прорастания после облучения 40 000 p

1 — контроль; 2 — опыт

При тех же условиях опыта в эндосперме, богатом липидами, и в зародыше облученных семян содержание перекисей не увеличивалось, в то время как в щитке отчетливо выявлялось резкое увеличение их содержания в первые 7 дней прорастания, по сравнению с контролем, как это видно из данных эксперимента, представленных на рис. 110.

Полученные в этом исследовании результаты, как нам кажется, опровергают предположения о том, что в липидах облученных живых тканей возникают длительно идущие, разветвленные реакции окисления, не зависящие от обмена и приводящие к накоплению перекисей. Было показано, что перекиси не образуются в облученном семени до тех пор, пока не начнутся интенсивные процессы обмена. Мы видим, что перекиси не найдены ни в эндосперме, ни в зародыше, а образуются только в той ткани (щитке), которая богата окислительными ферментными системами, упорядоченно расположенными в митохондриях.

Возрастание содержания липидных перекисей в листьях фасоли при облучении в дозе 1—10 тыс. p, в результате активации липоксидазы было наглядно продемонстрировано и в исследованиях Будницкой и Борисовой [92].



Нарушение окислительных ферментативных процессов отражает, вероятно, те глубокие изменения обмена веществ, которые лежат в основе поражающего действия радиации.

Суммируя данные, изложенные в этой главе, мы приходим к выводу, что изменения в обмене липидов тесно связаны с нарушением углеводного обмена, воздействием радиации на липопротеидные компоненты внутриклеточных структур и извращением окислительных ферментативных процессов в митохондриях облученных клеток. Отчетливо выявляется усиление синтеза липидов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. А. Шевалье, К. Бюрг. В сб.: Вопросы радиобиологии. ИЛ, М., 1956, стр. 11.
2. Н. Н. Демин. В кн.: Вопросы радиобиологии, III, под ред. П. Н. Киселева и др. Л., 1960, стр. 158.
3. J. G. Coniglio, W. J. Darby, M. C. Wilkerson, R. Stewart. Amer. J. Physiol., 172, 86, 1953.
4. Z. M. Bacq, C. Burg, A. Chevallier, C. Heunsgheem. J. Physiol., 43, 640, 1951.
5. Е. Ф. Романцев. Цит. по кн.: И. И. Иванов и др. «Обмен веществ при лучевой болезни». М., 1956, стр. 134.
6. A. B. Dietz, Steinberg. Arch. Biochem., Biophys., 23, N 2, 222, 1949.
7. Н. А. Бузни, С. А. Никитин. Труды Одесск. рентгеноонкол. ин-та, 2, 85. 1934.
8. Г. Зедгенидзе и др. Вестник рентгенол. и радиол., 17, 356, 1936.
9. K. Schmidt. Virchows Arch., 231, 557, 1921.
10. С. А. Никитин. Труды Одесск. рентгеноонкол. ин-та, 3, 107, 1938.
11. E. E. Elko, N. R. Di Luzio. Radiation Res., 11, 1, 1959.
12. F. Ellinger. Radiology, 44, 241, 1945.
13. F. Ellinger. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 74, 616, 1950.
14. F. Ellinger. Science, 104, 502, 1946.
15. G. P. Davidson, C. Simonson, W. E. Cornatser. Federat. Proc., 13, 197, 1954.
16. М. П. Елеazarova, В. С. Степанов. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиол. Секция эксперим. радиол., М., 1956, стр. 48; М. П. Елеazarova. V Междунар. биохим. конгресс. Рефераты, 11, 437, 1961.
17. D. J. Buchanan, W. J. Darby, E. B. Bridgforth, G. W. Hudson. Amer. J. Physiol., 174, 3, 336, 1953.
18. W. E. Cornatser. Radiat. Res., 1, 6, 546, 1954.
19. C. C. Lushbaugh, D. B. Hale. Cancer, 6, 4, 683, 1953.
20. R. Tsukamoto. Strahlentherapie, 17, 320, 1924.
21. L. T. Stadman. Quart. Techn. Rep. Univ. Rochester, 1949.
22. H. I. Kohn, J. E. Richmond, K. Salomon. Biochim. et biophys. acta; 7, 460, 1951.
23. К. В. Смирнов и В. А. Шатерников. Вопр. мед. химии, 6, 464, 1960.
24. R. L. Rosenthal. Science, 110, 43, 1949.
25. J. E. Hewitt, T. L. Haves, J. W. Gofman, H. B. Johnes, F. T. Pierce. Amer. J. Physiol., 172, 579, 1953.
26. N. Weiner, H. G. Albaum, L. H. Milch. Arch. Pathol., 60, 621, 1955.
27. C. Winkler, G. Paschke. Radiation Res., 5, 156, 1956.
28. M. N. Gold Water, C. Entenman. Radiation Res., 4, 243, 1956.
29. O. A. Schejede, N. Ragan, S. Simons. Radiation Res., 9, 327, 1958.



30. O. A. Schejede, N. Ragan, R. G. McCandless, F. C. Bishop. *Radiation Res.*, **13**, 205, 1960.
31. C. Entenman, R. A. Neve, C. A. Olmstead. *Federat. Proc.*, **12**, 40, 1953.
32. C. Entenman, R. A. Neve, H. Supplee, C. A. Olmstead. *Arch. Biochem. a. Biophys.*, **59**, 7, 97, 1955.
33. Н. Е. Пономаренко. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиологии. Секция эксперим. радиол., М., 1956, стр. 49.
34. Y. Yennotte, E. H. Betz. *C. r. Soc. biol.*, **147**, 9—10, 941, 1954.
35. L. F. Nims, E. Sutton. *Amer. J. Physiol.*, **177**, 1, 51, 1954.
36. И. И. Иванов, З. И. Жуланова, Е. Ф. Романцев. *Бюлл. радиац. мед.*, **1**, 1954.
37. K. P. Dubois, K. W. Cohan, J. Doll. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **76**, 422, 1957.
38. M. G. Morehouse, R. L. Searcy. *Science*, **122**, 319, 158, 1955.
39. S. R. Lerner, W. L. Warner, C. Entenman. *Federat. Proc.*, **12**, 1, 5, 1953.
40. J. G. Coniglio, G. W. Hudson. *Federat. Proc.*, **13**, 194, 1954.
41. H. K. Hannel, J. Willian-Ulrich. *Internat. J. Rad. Biol.*, **1**, 366, 1959.
42. К. А. Третьякова, Д. Э. Гродзенский. *Вопросы мед. химии*, **5**, 5, 362, 1959.
43. R. G. Gold, V. L. Bell, E. M. Lilly. *Amer. J. Physiol.*, **196**, 1231, 1959.
44. K. J. Altman, J. E. Richmond, K. Solomon. *Biochim. et biophys. acta*, **7**, 460, 1951.
45. R. G. Gould, L. V. Lotza, E. M. Lilly. *Federat. Proc.*, **15**, 1, 264, 1956.
46. M. Lourau Pitres. *Ark. kemi*, **7**, 3, 24, 211, 1954.
47. R. B. Mefferd, W. D. Webster, M. A. Nymann. *Radiat. Res.*, **7**, 461, 1958.
48. Y. F. Mean, A. B. Decker, L. R. Bennett. *J. Nutr.*, **43**, 485, 1951.
49. Р. Д. Гальцева, М. Н. Мейсель, Л. А. Селиверстова. *Докл. АН СССР*, **98**, 6, 1013, 1954.
50. М. Н. Мейсель. В сб.: *Действие облучения на организм*. М., 1955, стр. 78.
51. М. Н. Мейсель. В сб.: *Радиобиология*. М., 1958, стр. 33.
52. F. G. Sherman, A. B. Almeida. В кн.: *Advances in Radiobiol.*, Edinburgh. 1957, p. 49.
53. G. Hevesy, G. Dreyfus. *Akr. kemi*, **4**, 22, 1951.
54. А. С. Кайнова. *Биохимия*, **25**, 540, 1960.
55. K. J. Altman, G. W. Casarett, T. R. Noonan, K. Salomon. *Federat. Proc.*, **8**, 1, 1949.
56. C. Entenmann, E. O. Weinmann. *Federat. Proc.*, **15**, 11, 1956.
57. C. D. Yardetzky, C. P. Barnum, H. Vermund. *J. Biol. Chem.*, **222**, 1, 1956.
58. С. В. Гастева, О. В. Малиновский, Д. А. Четвериков. *Научные сообщения Ин-та физиологии им. Павлова*, **2**, 223, 227, 1959.
59. Д. А. Четвериков, С. В. Гастева. V Междунар. биохим. конгресс. Рефераты секций, **2**, 452, 1961.
60. Н. Н. Демин и А. С. Крайнова. *Радиобиология*, **1**, 182, 1961.
61. Н. Н. Демин. В сб.: *Проблемы эволюции функций и энзимохимии процессов возбуждения*. М., Изд-во АН СССР, 1961, стр. 118.
62. В. Д. Блохина. *Мед. радиол.*, **4**, 1, 53, 1959.
63. В. Д. Блохина. *Мед. радиол.*, **4**, 2, 37, 1959.
64. В. Д. Блохина и Н. Н. Демин. *Биохимия*, **24**, 723, 1959.
65. Н. Н. Демин и В. Д. Блохина. (N. N. Doemin a. V. D. Blokhina). В кн.: *The initial effects of ionizing radiations on cells*. London, 1961, p. 141.
66. P. Dubouloz, Y. Dumas, Y. Vigne. *C. r. Soc. biol.*, **144**, 1080, 1950.
67. H. Gadlewsky. *Folia morphol.*, **9**, 35, 1958.



68. V. J. Horgan, J. Philpot. Trans. Faraday Soc., 49, 3, 1943; Brit J. Radiol. N. S, 27, 63, 1954.
69. И. К. Коломийцева. Биофизика, 5, 339, 1960.
70. E. Schauenstein. Klin. Wochenschr., 37, 116, 1959.
71. V. J. Horgan, J. Philpot. В кн.: «Radiobiology Symposium», ed. Bacq a. Alexander. London, 1955, p. 26.
72. V. J. Horgan, J. Philpot, B. W. Porter a. D. B. Roodin. В кн.: «Organic peroxides in radiobiology». Paris, Masson, 1958, p. 50.
73. И. К. Коломийцева, А. М. Кузин. В сб.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиологического эффекта. М., 1959, стр. 26.
74. З. И. Жуланова, И. А. Коровина, Е. Ф. Романцев. В сб.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиол. эффекта, 1960, стр. 43.
75. З. Н. Жуланова. Радиобиология, 1, 70, 1961.
76. А. И. Журавлев, Е. Э. Ганасси. Мед. радиол., 4, 8, 32, 1959.
77. A. A. Barber. Federat. Proc., 17, 9, 1957.
78. A. Chevallier, C. Burg. Ann. nutr. et aliment., 7, C 81, 1953.
79. F. Bernheim, M. L. C. Bernheim, K. M. Wilbur. J. Biol. Chem., 174, 257, 1948.
80. F. L. C. Bernheim, A. Ottolenghi, E. Bernheim. Biochim. et biophys. acta, 23, 431, 1957.
81. F. Bernheim, A. Ottolenghi, K. M. Wilbur. Radiation Res., 4, 132, 1956.
82. A. A. Barber, K. M. Wilbur. Radiation Res., 10, 167, 1959.
83. A. Ottolenghi, F. Bernheim. Radiation Res., 12, 371, 1960.
84. Б. Н. Тарусов. Основы биологического действия ионизирующих излучений. Медгиз, 1954.
85. Б. Н. Тарусов. В сб. Первичные процессы лучевого поражения. Медгиз, 1957.
86. Б. Н. Тарусов. Основы биологического действия ионизирующих излучений. Медгиз, 1954.
87. Б. Н. Тарусов. Доклады советских ученых на 2-й Междунар. конф. по мирному исп. атомной энергии. М., Атомиздат, 1959.
88. А. М. Кузин. В сб.: Радиобиология. Изд-во АН СССР, 1958, стр. 3.
89. А. Л. Шабадаш. В сб.: Радиобиология. 1958, стр. 161.
90. А. М. Кузин, А. Л. Шабадаш. Доклады советских ученых на 2-й Междунар. конф. по мирному исп. атомной энергии. Атомиздат, 1959.
91. А. М. Кузин, Л. М. Бронская, Н. М. Березина, В. А. Языкова. В сб.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиологического эффекта. Изд-во АН СССР, 1960, стр. 33.
92. Е. В. Будницкая, И. Г. Борисова. В сб.: Роль перекисей и кислорода в начальных стадиях радиобиол. эффекта. М., 1960, стр. 85.

ВЛИЯНИЕ  
НА МИНЕРАЛЬНУЮ

Содержание  
бодных  
лей  
состояние  
ных соеди  
численны  
структур,  
ганизме  
ной систе

Чувствительность  
кополимер  
воздействи  
излучения  
мость ме  
лабильно  
ного аппа  
онным в  
ляют пре  
отдельны  
рального  
блюдают  
сдвиги п  
ки, ткан  
низма.

Общая  
вожван  
прослеж  
жения в  
физиоло  
Пол  
ливо по  
туплен  
из внут



## ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН

Содержание воды в тканях, соотношение связанных и свободных ионов, поглощение и выделение минеральных солей теснейшим образом связаны в живом организме с состоянием и электрохимическими свойствами макромолекулярных соединений. Минеральный обмен тонко регулируется многочисленными полупроницаемыми мембранами внутри клеточных структур, оболочками клеток, сосудов, тканей, а в животном организме и нейрогуморальной системой.

Чувствительность высокополимерных соединений к воздействию ионизирующих излучений, легкая поражаемость мембран и большая лабильность нейрогуморального аппарата к радиационным воздействиям позволяют предполагать, что и в отдельных звеньях минерального обмена будут наблюдаться те или иные сдвиги при облучении клетки, ткани или целого организма.

Общая тенденция к обезвоживанию организма при развитии лучевого поражения была прослежена Кэррен с сотрудниками [1] при исследовании движения воды через кишечник облученных крыс, перфузируемый физиологическим раствором.

Полученные ими данные, представленные на рис. 111, отчетливо показывают, что уже в первые часы после облучения поступление воды через кишечник падает, через 13 час. поток воды из внутреннего пространства кишечника в плазму крови прекра-

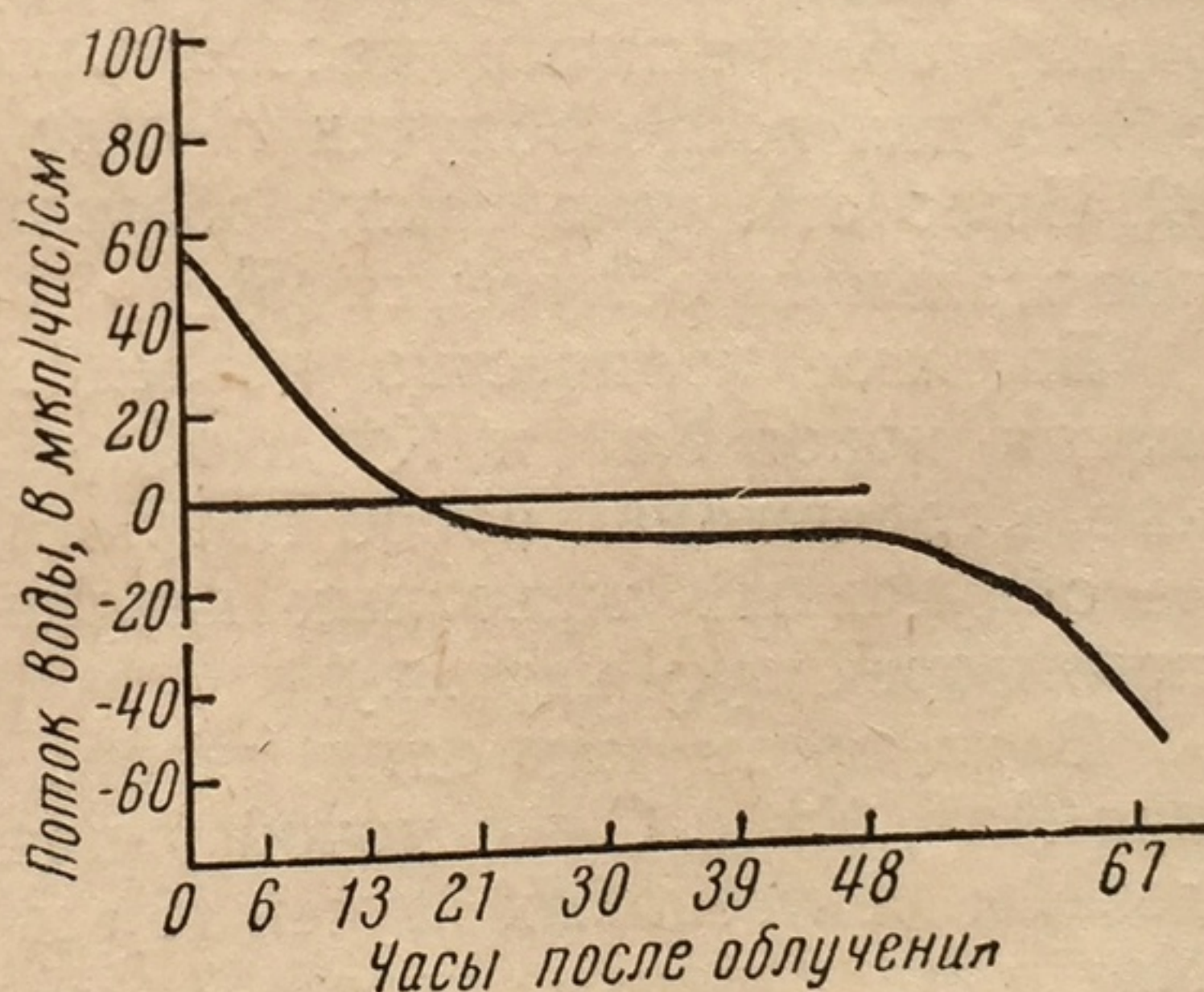


Рис. 111. Поток воды через стенки кишечника крыс после тотального облучения при дозе 2500 р



щается, а через 67 час. (незадолго до гибели при этой дозе) наблюдается отчетливый обратный поток из плазмы в кишечник.

Общее содержание воды в теле облученной голодающей крысы (2100 р), определяемое методом разбавления вводимой тритиевой воды, падало, как это видно из следующих средних цифр:

	Общее содержание, г	Вода в тканях, %
Контроль . . . . .	192	70,1
1 час после облучения . . .	168	70,9
24 часа » . . . . .	166	69,9
48 час. » . . . . .	153	68,6
72 часа » . . . . .	129	69,9

Вследствие потери веса процент воды в тканях почти не менялся [2].

Отчетливое снижение содержания воды наблюдалось при облучении эпидермиса кожи  $\beta$ -частицами  $\text{Sr}^{90}$ — $\text{Y}^{90}$  в дозе 3000 р. На 5-й день после облучения снижение воды достигало 15% и держалось на этом уровне около 2-х месяцев [3].

В опытах с тараканами (*Periplaneta americana*) было показано значительное возрастание потребления воды (более чем вдвое) облученными насекомыми (10 000 рад, ЛД<sub>50</sub>), начиная с 3-го дня после облучения и до их гибели (на 10—13-й день) [4]. Было отмечено также обезвоживание селезенки крысы после тотального облучения [5].

Большое количество исследований было посвящено содержанию ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в облученном организме. Ранние данные о содержании ионов натрия и калия в крови, тканях и моче облученных животных давали мало отчетливую и подчас противоречивую картину.

В то время как одни авторы наблюдали усиление выведения  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  с мочой у крыс, облученных сублетальными дозами рентгеновых лучей [6] и соответствующее повышение  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в плазме крови [7, 8], другие не обнаруживали такого повышения катионов в крови [9] и высказывали соображения о сравнительной устойчивости обмена  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  при тотальном облучении организма [10].

Так, например, по данным Гудмана и Фогель [11], тотальное облучение кроликов дозами 600—850 р в течение первых 30, 60 и 90 мин. и затем на протяжении 15 дней после облучения почти не изменяло содержания натрия и калия в сыворотке крови. Только в некоторых случаях было обнаружено высокое содержание калия в сыворотке крови кроликов при больших дозах в момент смерти под лучом.

При тотальном облучении взрослых самцов крыс (660 р) было найдено [6] некоторое уменьшение  $\text{K}^+$  и увеличение  $\text{Na}^+$



и  $\text{Cl}^-$  в радиочувствительной ткани (кишечник). Радиоустойчивые ткани не показали этих различий. Баланс между получаемыми с пищей  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Cl}^-$  и их потерей с мочой и фекалиями у облученных крыс не отличается от баланса у контрольных. У золотистого хомяка после тотального облучения (1000 p) наблюдается уменьшение концентрации натрия в сыворотке [12]. Доза 600 p не вызывала изменений в балансе этих электролитов. Некоторые сдвиги в содержании калия в сыворотке и в скорости выделения  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  с мочой отмечались у облученных беременных крыс [13] и при терапевтических облучениях людей [14, 15].

Если при суммарном определении содержания катионов исследователи не находили существенных изменений, то при исследовании передвижения  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  между тканями и отдельными органеллами клетки (метод меченых атомов) было показано, что под влиянием облучения наблюдаются существенные изменения.

Прежде всего следует отметить, что активный транспорт воды в кишечнике всегда сопровождается и транспортом иона натрия. Эти соотношения не изменяются и при облучении. Замедление и прекращение всасывания воды после облучения массивными дозами, отмеченное выше, сопровождается и быстрым падением (в течение первых 13 час.) всасывания натрия и его выделением из плазмы в кишечник в более поздние сроки [1].

Исследование при помощи изотопов как оттока  $\text{Na}^+$  из кишечника, так и его притока из плазмы, показало, что оба процесса угнетаются на терминальных стадиях заболевания (7 час), но в неодинаковой степени, благодаря чему в контроле и в первые часы после облучения преобладает отток, между 13 и 39 час. процессы уравниваются, а через 48—67 час. после облучения приток из плазмы  $\text{Na}^+$  начинает вполне отчетливо превышать отток [1].

По-видимому, здесь мы наблюдаем непосредственное действие радиации на активный транспорт ионов эпителиальными клетками.

Нарушение активного переноса катионов через стенки клеток под влиянием облучения наблюдали на различных объектах. Кун, Эллинвуд и Вильсон [16] сообщили о значительной утечке калия из сердечных мышц млекопитающих час спустя после тотального облучения в дозе 1000 p. Значительные потери  $\text{K}^+$  наблюдались при перфузии сердца кролика, облученного *in vitro* в дозах 500—2500 p [17]. Исследование содержания  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  в селезенке крысы после массивных доз облучения (500—12000 p) показало падение  $\text{K}^+$  и возрастание  $\text{Na}^+$  при сравнительно устойчивом содержании хлоридов [5].

Гуднер [18] наблюдал через 48 час. после облучения в дозе 200 p падение оттока  $\text{Na}^+$  через стенки кишечника на 60% от



контроля. Следует, однако, подчеркнуть, что изменение активного транспорта катионов под влиянием облучения происходит далеко не во всех тканях. Не удалось обнаружить никакой утечки калия из поперечнополосатых мышц крысы даже при облучении в дозе 73 кр [10]. Содержание калия и натрия не изменялось в почках и печени крыс в течение 48 час. после тотального облучения в дозе 880 р [19].

Изменение активного транспорта калия через стенки клетки под влиянием облучения было подробно исследовано на дрожжевых микроорганизмах Ротштейном [20]. При облучении дрожжей уже при дозе в 10—20 кр наблюдалось увеличение выхода  $K^+$ , а при дозе в 50 кр отток калия увеличивался вдвое. Была показана [21, 22] зависимость этого эффекта от кислорода.

В отсутствие кислорода эффекта не наблюдалось до увеличения дозы до 120 кр, затем кривая зависимости выхода  $K^+$  от дозы имела тот же наклон, что и в присутствии  $O_2$ . Если температура во время облучения была понижена до  $0^\circ$ , то минимальная доза, вызывающая отток  $K^+$ , возрастала до 240 кр в отсутствие кислорода. Все это говорит о нарушении активного метаболического переноса  $K^+$  через стенки клетки [23].

Увеличение оттока калия из клеток *E. coli* в стационарной фазе под влиянием рентгеновского облучения было описано Гаррисоном с сотрудниками [24]. Наблюдаемый эффект зависел от pH среды и количественно различался у разных штаммов.

Активный транспорт рубидия ( $Rb^{86}$ ) через стенки клеток водорослей *Chlorella* заметно снижался в течение часа после облучения небольшими дозами (100 р). Танада, работая с корешками бобов, наблюдал резкое падение проницаемости рубидия в ткань в первые минуты после облучения ( $\sim 2000$  р) [25]. Через 8—10 мин. проницаемость восстанавливалась. Это явление, по видимому, связано с кратковременной перезарядкой высокомолекулярных полиэлектролитов клеточных оболочек под влиянием радиации.

Аналогичные кратковременные нарушения проницаемости электролитов через стенки растительных клеток были отмечены нами совместно со Стражевской [26] у корешков пшеницы, после облучения (1000 р), которые снижали поглощение ионов на 30—40% и возвращались к исходным значениям уже спустя 4 часа после облучения.

Исключительно большой интерес имеет работа Кризи [27], показавшая, что при облучении изолированных клеточных ядер селезенки уже при дозе в 40 р можно наблюдать выделение калия, а при 100 р выделение увеличивается на 80% от контроля. Еще более чувствительным к облучению оказался ион натрия. При дозе в 20—40 р ядра теряли 60% содержащего в них натрия, а при облучении в дозе 60—80 р потери достигали величин



в 80—90%. Эти наблюдения приобретают особое значение в связи с работами лаборатории Мирского, в которых было обнаружено высокое содержание натрия в ядре клетки [28] и установлена зависимость транспорта аминокислот в ядро клетки от содержания натрия в ядре [29]. Кризи предполагает, что между потерей натрия под влиянием облучения, торможением окислительного фосфорилирования и активным синтезом белков в ядрах существует непосредственная связь.

Падение содержания  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в ядрах, изолированных из тимуса и селезенки, спустя час после тотального облучения животного в дозе 1000 *p*, указывает, что перемещение  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  между клеточными структурами под влиянием облучения может происходить непосредственно и в живой клетке.

Вероятно, перемещение ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  между отдельными внутриклеточными структурами происходит после облучения, благодаря изменению заряда таких высокомолекулярных полиэлектролитов, как нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды, гиалуроновая кислота, мукополисахариды и др.

Изменение концентрации  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  может оказать существенное влияние также и на активность ряда ферментов, для которых они являются кофакторами (как, например, для ферментов ядра, переносящих аминокислоты через оболочку, необходимо присутствие  $\text{Na}^+$ , а для соответствующих ферментов клеточных стенок —  $\text{K}^+$ ).

Небольшое число работ посвящено исследованию кальциевого обмена у облученных животных.

Иваненко наблюдал снижение концентрации кальция после облучения плазмы крови кроликов летальными дозами рентгеновых лучей [30]. Временное снижение содержания  $\text{Ca}^{++}$  в сыворотке крови было отмечено и у людей при очень малых дозах (25—150 *p*) [31].

Обмен кальция в костях, изученный с применением радиоактивного кальция ( $\text{Ca}^{45}$ ), значительно снижается при облучении (2000 *p*) молодых крыс [32].

Большой интерес представляют внутриклеточные перемещения кальция в связи с меняющейся радиочувствительностью клеток в различные фазы деления.

Стеффенсон показал [33] на традесканции, что при недостатке  $\text{Ca}^{++}$  резко возрастает радиочувствительность хромосом и количество хромосомных aberrаций после облучения в дозе 400 *p* увеличивается на 40%.

Большое количество работ было посвящено обмену железа в облученном организме. Резкое подавление синтеза гемоглобина и усиление его распада при остром лучевом синдроме находятся в тесной связи с нарушениями железистого обмена [34—36]. Включение радиоактивного железа ( $\text{Fe}^{59}$ ) в циркулирующие эритроциты было использовано как показатель угнетения кро-



ветворных функций костного мозга ионизирующей радиацией. Подавление исследовалось при тотальном облучении рентгеновыми лучами в дозе от 25 до 400 *p*. Было показано, что уже при 30 *p* можно обнаружить заметное отклонение от нормы. Это указывает на чрезвычайную чувствительность обмена железа к

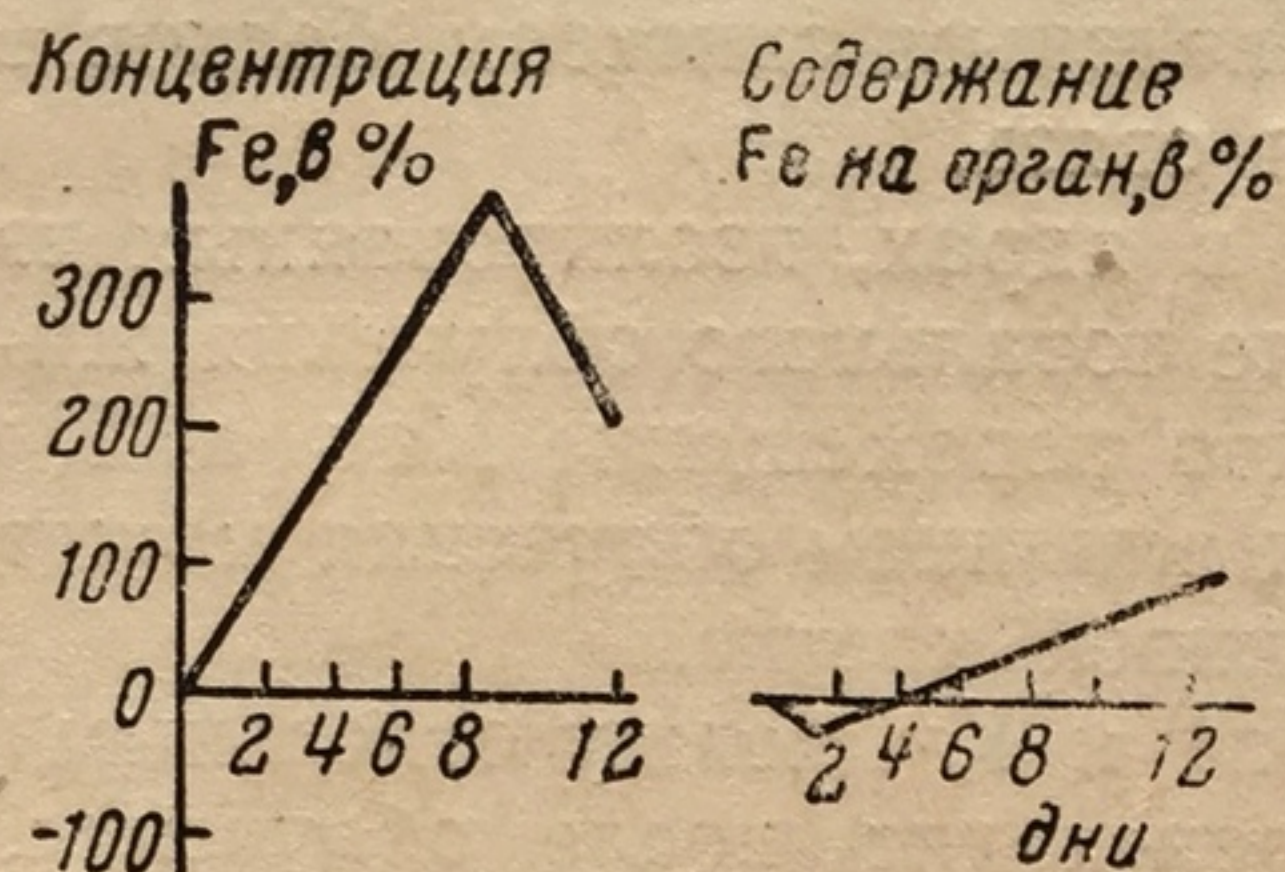


Рис. 112. Возрастание железа в селезенке крысы после тотального облучения при дозе 600 *p*, в % к контролю

воздействию ионизирующей радиации [37].

Наблюдение включения радиоактивного железа в эритроциты крови крыс после облучения показало, что дозы 50—100 *p* приводят к заметному замедлению этого процесса в течение первых семи дней после облучения. Доза в 200 *p* почти полностью подавляет включение железа в течение первых двух дней и только на 7-й день процесс восстанавливается на 50%, а доза в 400 *p* угнетает включение в течение

всех семи дней исследования [37]. Резкое уменьшение способности эритроцитов крови поглощать железо *in vitro* после тотального облучения было показано и в других работах [38, 39]. Уменьшение включения железа в эритроциты приводит к значительной гиперферримии, наблюдаемой уже через час после облучения при дозе в 400 *p*. Содержание железа в плазме значительно повышалось у большинства животных, подвергавшихся однократному или хроническому облучению [40]. Нарушение обмена  $Fe^{++}$  в плазме отмечалось при тотальном облучении уже при 50 *p* и возрастало с увеличением дозы до 300 *p* [41]. Нарушения обмена железа легко обнаруживаются и в селезенке облученных животных, депонирующей железо в период разрушения эритроцитов [42, 43].

Наблюдаемое при этом возрастание содержания  $Fe^{++}$  показано на рис. 112 [44].

Резко нарушаются обменные процессы, связанные с включением железа в гемоглобин костномозговой ткани [45]. В ряде работ [46—48] было показано, что при облучении морских свинок и крыс резко снижается включение  $Fe^{59}$  не только в гемоглобин, но и в миоглобин. При дозе в 500 *p* спустя 6 час. после облучения интенсивность включения  $Fe^{59}$  в миоглобин составляла 0,6—0,4 контроля (контроль равен единице), а через 24 часа — 0,1 контроля. Для гемоглобина эти значения были соответственно 0,2—0,4 и 0,09. В то же время включение  $Fe^{59}$  в цитохром *b* печени при облучении 1300 *p* не уменьшалось [45], а наблюдалось даже некоторое увеличение включения [46], которое, по-видимому, зависело не от истинного ускорения



образования цитохрома *b*, а от избытка железа в печени, неиспользуемого на синтез гемоглобина в костном мозгу.

Интересно, что в то время как включение  $\text{Fe}^{59}$  в костный мозг чрезвычайно чувствительно к тотальному облучению животного и подавление через 24 часа после облучения может быть обнаружено даже при дозах в 5—25 *p* [49], включение  $\text{Fe}^{59}$  в костный мозг в культурах ткани не угнеталось даже при дозах в 500 *p* [50].

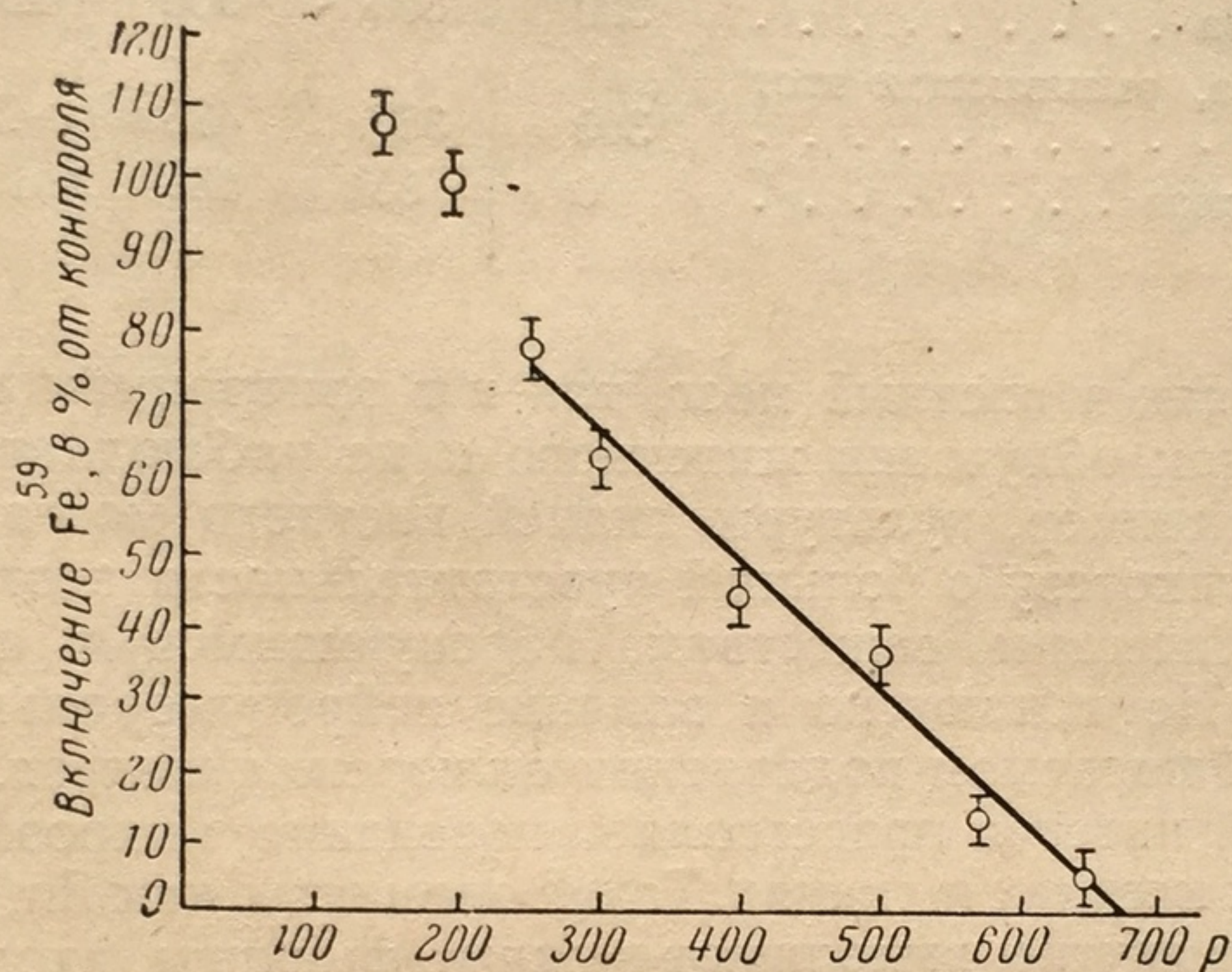


Рис 113. Включение радиоактивного железа во вновь образующиеся эритроциты в зависимости от дозы облучения (изотоп вводился 5 дней спустя после облучения)

При малых дозах нарушенное включение  $\text{Fe}^{59}$  во вновь образующиеся эритроциты приходит к норме через 5—6 дней после облучения, однако при больших дозах подавление сохраняется в эти сроки и оказывается прямо пропорционально дозе, как это видно из данных опыта, представленных на рис. 113 [51].

Большой интерес представляют данные о том, что нарушение включения  $\text{Fe}^{++}$  под влиянием сублетальных доз радиации, даже за длительный период времени, не восстанавливается полностью. Баум и Альпен [51] исследовали влияние повторного облучения через 3-месячный интервал на включение железа. Хотя за это время картина крови полностью восстанавливалась, включение железа уменьшалось более значительно, чем при первом облучении, что говорило о наличии «остаточного эффекта». Результаты одного из таких опытов приведены в табл. 55.

Анализируя приведенные выше эксперименты, мы приходим к выводу, что процесс включения железа в гемо- и миоглобин животного организма — один из весьма радиочувствительных процессов. Следует специально подчеркнуть, что угнетение



Таблица 55

Влияние повторного облучения крыс в дозе 300 р  
(через 90 дней) на включение железа

	1-кратное	2-кратное	3-кратное	4-кратное	5-кратное
Включение $\text{Fe}^{59}$ , в % от контроля	64,6	51,6	42,0	39,8	36,8
Суммарная доза . . . . .	300	600	900	1200	1500
Одинокная доза, вызывающая этот эффект . . . . .	300	385	435	450	465
«Остаточная» доза . . . . .	0	85	135	150	165

включения как в костный мозг, так и в эритроциты происходит при тотальном облучении животного и не наблюдается при облучении, например, культуры тканей костного мозга. Это подтверждает гипотезу о большой чувствительности этого процесса к радиотоксическим веществам, образующимся в облученном организме. Не исключено и влияние нейрогуморального механизма в наблюдаемом подавлении включения железа.

Большой интерес представляет поведение микроэлементов в облученных клетках и тканях. Такие элементы, как Zn, Cu, Mn, Co и некоторые другие, выполняют важные функции, входя в состав отдельных ферментов, и изменение концентрации этих микроэлементов может быть непосредственно связано с изменением активности соответствующих ферментов. К сожалению, мы имеем только весьма неполные и отрывочные сведения о поведении микроэлементов в тех или иных тканях после облучения.

Данные же об их перераспределении среди внутриклеточных органелл после облучения пока что полностью отсутствуют.

Было найдено, что в организме крысы, после тотального облучения в дозе 600 р, наблюдается систематическое возрастание общего содержания и концентрации меди в тканях легкого. Как видно из рис. 114, на 8-й день после облучения концентрация меди в легких возрастает в 3 раза, по сравнению с нормой. В то же самое время в почках содержание меди ниже нормы так же, как и в селезенке, хотя в последней концентрация несколько выше контроля [44]. Отмечено повышение содержания меди в крови животных после длительного хронического облучения [52].

В то же самое время содержание и особенно концентрация Mn в селезенке облученных животных резко возрастает, достигая максимума на 8-й день.

По одним данным, концентрация Mn возрастает в 3 раза [44], а по другим — более чем в 6 раз [53]. Интересно, что повышение концентрации Mn можно наблюдать уже при дозе облучения в



200 p через 4 и 8 час. причем через 8 час. увеличивается и общее содержание Mn на орган.

Содержание Zn падает в первые дни после облучения (селезенка) [44, 52]. Отмечено резкое возрастание на 8-й день после облучения (600 p) в селезенке концентрации хрома, примерно в 10 раз больше нормы при расчете на 1 мг фосфора ДНК, при увеличении содержания хрома почти в два раза на весь орган [53].

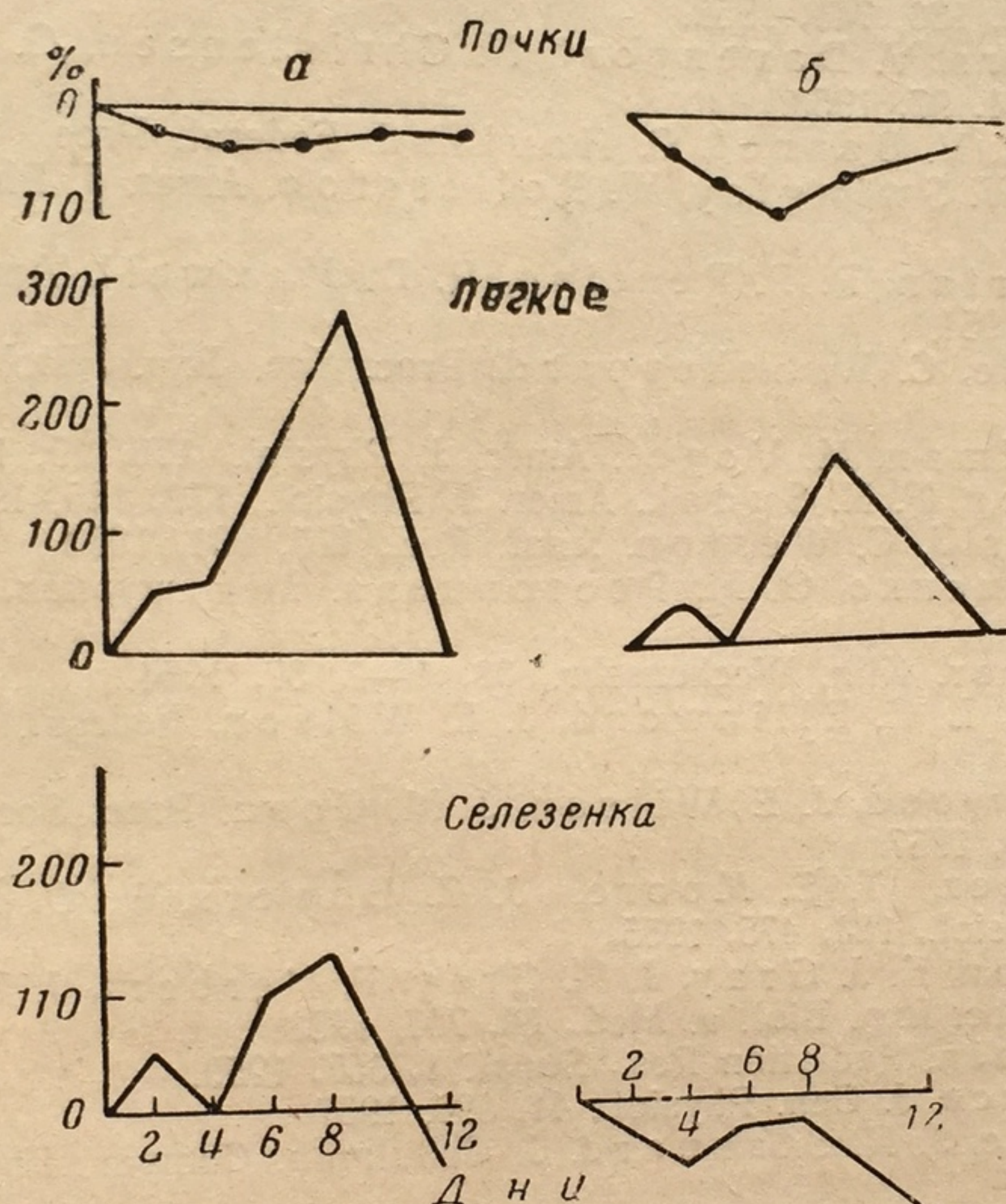


Рис. 114. Изменения концентрации (а) и содержания (б) меди в тканях крысы (процент к норме) в различные дни после облучения при дозе 600 p

Если имеются столь резкие сдвиги при суммарном исследовании ткани и органа, то можно было ожидать еще больших сдвигов в концентрации микроэлементов в отдельных органеллах клетки, что неизбежно будет связано с активностью ферментов, для которых микроэлементы являются активаторами, ингибиторами или входят в состав активной протетической группы. Несомненно, что дальнейшее более детальное изучение поведения микроэлементов в облученной клетке поможет лучше понять роль наблюдаемых сдвигов в радиационном поражении.



## ЛИТЕРАТУРА

1. P. F. Curran, E. W. Webster, F. A. Hovsepian. *Radiation Res.*, **13**, 369, 1960.
2. C. C. Lushbaugh, F. Sutton, C. R. Richmond. *Radiation Res.*, **13**, 814, 1960.
3. F. Tabachnick, C. Weiss. *Radiation Res.*, **11**, 684, 1959.
4. D. R. A. Wharton, M. L. Wharton. *Radiation Res.*, **14**, 432, 1961.
5. H. Breuer, R. Knuppen, H. K. Z. Rarchwitz. *Naturforsch. u. Med. Deutschlands*, **136**, 741, 1958.
6. J. Z. Bowers, V. Davenport, N. Christensen, G. F. Goodner. *Radiology*, **61**, 97, 1953.
7. L. Bennet, V. Bennet, G. Hovland. *Federat. Proc.*, **8**, 350, 1949.
8. H. Kohn, W. Swingley, W. Rollerston. *Amer. J. Physiol.*, **162**, 703, 1950.
9. R. J. Sobertan, R. P. Reating, R. D. Maxwell. *Amer. J. Physiol.*, **164**, 2, 450, 1951.
10. W. S. Wilde, C. W. Scheppard. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **88**, 249, 1955.
11. R. D. Goodman, M. Vogel. *Amer. J. Physiol.*, **175**, 29, 1953.
12. G. P. Fulton, F. N. Sudak. *Amer. J. Physiol.*, **179**, 135, 1954.
13. H. J. Evans, J. C. Weston. *Anat. Rec.*, **117**, 631, 1953.
14. Ф. У. Шраменко, О. М. Ростовцева. *Мед. журнал*, **24**, № 3, 73, 1954.
15. H. J. Maurer. *Klin. Wochenschr.*, **32**, 1—2, 37, 1954.
16. J. M. Coon, L. E. Ellinwood, J. E. Wilson. *Federat. Proc.*, **14**, 329, 1955.
17. L. E. Ellinwood, J. E. Wilson, J. M. Coon. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **94**, 129, 1957.
18. G. F. Goodner, T. E. Moore, J. Z. Bowers, W. D. Armstrong. *Amer. J. Physiol.*, **183**, 475, 1955.
19. J. R. Denson, E. J. Gray, J. H. Gray, F. Herbert, J. Tew, H. Jensen. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **82**, 707, 1953.
20. A. Rothstein. *Radiation Res.*, Suppl. **1**, 357, 1959.
21. A. K. J. Bruce. *J. Gen. Physiol.*, **41**, 693, 1957.
22. A. K. Bruce, J. N. Stanuand. *J. Cellular a. Compar. Physiol.*, **51**, 325, 1958.
23. A. K. Bruce, J. N. Stanuand. *J. Cellular a. Compar. Physiol.*, **52**, 165, 1958.
24. A. P. Harrison, A. K. Bruce, G. E. Stapleton. *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.*, **98**, 740, 1958.
25. T. Tanada. *Radiation Res.*, **9**, 552, 1958.
26. А. М. Кузин, Н. Б. Стражевская. *Биофизика*, **1**, 637, 1956.
27. W. A. Creasey. *Biochim. et biophys. acta*, **38**, 181, 1960.
28. A. E. Mirsky. 5. Internat. Biochem. Congr. Reports at the II Sympos. Moscow, 1961.
29. V. G. Allfrey. 5. Internat. Biochem. Congr., Reports at the II Sympos. Moscow, 1961.
30. Т. И. Иваненко. Цит. по кн. И. И. Иванов, В. С. Балабуха, Е. Ф. Романцев, Т. А. Федорова, «Обмен веществ при лучевой болезни». М., 1956, стр. 146.
31. F. Perger. *Wiener Klin. Wochenschr.*, **70**, 771, 1958.
32. S. H. Cohn, I. K. Gong. *Amer. J. Physiol.*, **173**, 1, 115, 1953.
33. D. Steffenson. *Nature*, **182**, 1750, 1958.
34. А. П. Белоусова, М. Г. Шитикова, Л. Л. Шепшелевич. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиологии. Секция эксперим. радиол. М., 1956. стр. 63.



35. A. Nizet, A. Herve. В кн.: «Radiobiol. Sympos.», ed. Bacq a. Alexander. London, 1954, p. 194.
36. F. Stohlman, E. D. Cronkite, G. Brecher. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 88, 3, 402, 1955.
37. E. Belcher, M. Gielbert, J. Lamerton. Brit. J. Radiol., 27, 319 387, 1954.
38. G. Klein. Arch. Biochem. a. Biophys., 54, 2, 556, 1955.
39. G. R. Klein, R. Cavalieri. Proc. Soc. Exp Biol. a. Med., 89, 1, 28, 1955.
40. B. F. Trum, T. J. Haley, M. Bassin, J. Neglin. Amer. J. Physiol., 174, 1, 57, 1953.
41. E. C. Grivin, J. K. Hampton. Proc. Soc. Exptl. Biol. a. Bed., 100, 481, 1959.
42. A. Chanutin, E. A. Zentz, S. Ludewig. Amer. J. Physiol., 173, 474, 1953.
43. A. Chanutin. Amer. J. Physiol., 173, 3, 481, 1953.
44. G. E. Heggen, K. B. Olson, C. F. Edwards, L. B. Clark, M. Ma-  
iswl. Radiation Res, 9, 285, 1958.
45. Л. А. Ключарев. Тезисы Всесоюз. конф. мед. радиологии. Секция  
эксперим. радиол. М., 1956, стр. 65.
46. R. Bonnichser, G. Hevesy, A. Akeson. Nature, 175, N 4460, 723.  
1955.
47. R. Bonnichser, G. Hevesy. Acta chem. Scand., 9, N 3, 509, 1955.
48. G. Hevesy, R. Bonnichser. Ann. Acad. sci. fennicae, Ser. A, 11, N 60,  
295, 1955.
49. T. J. Hennessy, R. L. Huff. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 73, 436, 1954.
50. L. G. Lajtha, H. D. Suit. Brit. J. Haematol., 1, 55, 1955; в кн.: «Prog-  
ress in Radiobiol.», Edinburgh, 1956, p. 557.
51. S. J. Baum, E. L. Alpen. Radiation Res., 11, 844, 1959.
52. T. J. Haley, A. M. Flesher, N. Komesy. Radiation Res., 8, 535, 1958.
53. K. B. Olson, C. F. Edwards, G. E. Heggen, A. S. Weinstein,  
L. B. Clark, M. Kaulfuss. Radiation Res., 13, 424, 1960.



## ОБРАЗОВАНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В ОБЛУЧЕННОМ ОРГАНИЗМЕ

Представления об образовании в облученном организме особых токсических веществ — «радиотоксинов», ответственных за дальнейшие симптомы и проявления лучевых поражений, возникли еще в начале нашего столетия и в той или иной форме высказывались на всем протяжении развития радиобиологии. Каспари [1] приписывал токсические свойства полупродуктам распада белков из погибших лейкоцитов, и его представления не раз дискутировались в литературе [2]; Эллиnger [3] пытался объяснить картину лучевого поражения освобождением гистамина и гистаминподобных веществ, Тарусов [4] предполагал, что ведущим радиотоксином является обнаруженный им и его сотрудниками гемолитический фактор, содержание которого возрастало в течение нескольких дней после облучения в некоторых тканях облученного организма. Роль «радиотоксина» приписывалась перекиси водорода, перекисям органических жирных кислот и другим перекисным соединениям. Однако все эти, как и многие другие, гипотезы, стремившиеся найти какое-то особое вещество «радиотоксин», ответственное за дальнейшее течение лучевого поражения, постоянно не выдерживали проверки в эксперименте. Такое понятие о «радиотоксине» не соответствует современным данным и можно согласиться с Баком и Александером, которые в последнем издании своей монографии [5] подчеркивают, что никакого специфического «радиотоксина» не существует.

Однако проблема образования токсических веществ под влиянием ионизирующей радиации значительно сложнее, чем она представляется многим авторам и, как нам кажется, ее постановка обоснована не только обширным фактическим материалом, но и необходима для правильного понимания механизмов биологического действия радиации.

В литературе существуют два подхода к пониманию механизма биологического действия радиации. Первый подход нашел выражение в теории мишени, в представлениях о чувст-



вительном объеме, о наличии в клетке уникальных молекул, попадание в которые ионизирующей частицы вызывает катастрофу в жизнедеятельности всей клетки. Эти представления базируются, как правило, на рассмотрении кривых выживаемости<sup>1</sup> и дают формальное описание явлений, не вскрывая истинных физико-химических механизмов лучевого поражения клетки. Эти представления немного дали для изыскания практических путей вмешательства в развивающиеся процессы лучевого поражения с целью их усиления или предупреждения. Другой, принципиально иной подход к пониманию лучевых повреждений исходит из глубокого изучения влияния радиации на реальные молекулярные и надмолекулярные структуры живого вещества и неразрывно связанного с этими структурами обмена веществ.

Нарушение под влиянием радиации внутренней организации живой клетки и изменение многочисленных сопряженных и тесно связанных между собой обменных процессов — неизбежно приводит к образованию в облученной клетке, ткани, органе или целом организме метаболитов измененного состава. Вследствие торможения одних и ускорения других обменных процессов в облученной живой системе тотчас после облучения начинают накапливаться или уменьшаться определенные метаболиты. Большая отрегулированность и взаимосвязанность всех реакций обмена в клетке приводят к тому, что малейшие изменения в одной системе приводят к сдвигам превращений веществ в других, усиливая нарушения обмена.

Изменение концентрации метаболитов или появление необычных метаболитов может быть ограничено пределами клетки. Диффузия этих веществ от одной части клетки (например, митохондрии) к другой (например, ядру) будет занимать очень мало времени (секунды или минуты) и поэтому возникшие под влиянием новых метаболитов процессы, например в ядре, могут быть легко восприняты как первичные, имея в действительности вторичный характер.

Измененные метаболиты могут диффундировать или активно выводиться за пределы клетки, оказывать влияние на соседние клетки или же поступать в гуморальную систему организма и оказывать действие на весьма удаленные органы и ткани. На современном этапе наших знаний живая клетка, живой организм представляется нам как сложная структурированная система, существование которой является следствием множества взаимосвязанных реакций обмена, система, где молекулярная и надмолекулярная организация вещества представляет единое

<sup>1</sup> В большинстве работ с микроорганизмами обычно фиксировалась не выживаемость, а способность к делению.



целое с реакциями обмена веществ как внутри системы, так и с внешней средой. Любое повреждение этой системы неизбежно приводит к изменению нормального течения обмена, к изменению концентрации или природы тех или иных метаболитов. Такие отклонения от нормы почти всегда вредны для течения нормального жизненного процесса, поэтому мы вправе говорить о всех аномально возникших метаболитах (качественно или количественно) как о токсических веществах. Изучение этих отклонений от нормы, исследование биологических свойств этих метаболитов, времени их существования и их природы представляется существенным шагом по пути познания механизмов биологического действия радиации.

Трудно предположить, что здесь мы сталкиваемся с каким-либо одним или несколькими веществами.

Элементарный подсчет показывает, что при летальной дозе облучения для животной клетки ( $\sim 500$  p) в ней произойдет около 1 500 000 ионизаций и возбуждений, т. е. возникнет 1 500 000 возможностей для начала аномальных реакций. Неправильно было бы думать, что большинство этих реакций не имеют значения для клетки и что только немногие из них, занимая какое-то особое положение, будут иметь последствия. Вряд ли можно согласиться с высказыванием Бака и Александера [5], что изменения, вызванные в низкомолекулярных соединениях, не могут иметь значения. Одной ионизации достаточно, чтобы инактивировать молекулу витамина  $B_2$ , пишут эти авторы, но для клетки это не будет иметь последствий, так как это только одна молекула из тысяч присутствующих в клетке. Подобные рассуждения являются отголосками прежних примитивных воззрений, когда на содержимое клетки смотрели как на гомогенный раствор различных веществ. В этом случае, конечно, трудно представить, чтобы разрушение одной из тысячи молекул имело бы серьезное последствие. Но, в действительности, при тонкой структурированности вещества в живой клетке, изменение структуры одной молекулы витамина  $B_2$ , являющегося составной частью флавинового фермента, фиксированного в определенном месте митохондрии, приведет к нарушению транспорта электронов в этой структуре, к накоплению недоокисленных метаболитов. Изменение концентрации последних может вызвать местное локальное изменение активной среды, что возбудит новую реакцию, не имевшую места в прежних условиях.

Эта новая реакция может дать начало двум-трем новым процессам, и так, благодаря тесной сопряженности всех реакций обмена в клетке, нарушение обмена в одном звене может привести к цепной последовательности измененных реакций, дающих в конечном итоге эффект, значимый для клетки в целом.

Таким образом, в структурированной системе клетки каждый начавшийся процесс может иметь значение даже при наличии



тысяч других неповрежденных молекул локализованных в других частях этой клетки.

Конечно, если рассматривать действие ионизирующей частицы, направленное только на уничтожение какой-то молекулы (чего в действительности никогда не происходит), то можно думать, что оставшиеся тысячи молекул заменят ее, скомпенсируют ее недостаток. Но все дело заключается в том, что под влиянием ионизирующей частицы молекула изменяется, возникает новая измененная молекула, вносящая разлад в процесс нормального обмена в данной структуре, и здесь уже безразлично присутствие тысяч неизменных молекул, так как в какой-то части клетки уже начались измененные обменные процессы, появились аномальные продукты обмена. Вот почему исследование этих аномальных метаболитов, объединяемых названием «токсических веществ» имеет исключительно большое значение для понимания общих механизмов биологического действия радиации. Исследование токсемии, возникающей внутри клетки, ткани, органа или целого организма, имеет и исключительно большое значение для разработки мероприятий по предупреждению и лечению лучевого поражения.

Что же в настоящее время известно о появлении аномальных метаболитов и их биологической роли в облученном организме?

Дюри, работая с яйцеклетками амфибий и изолированными из них ядрами, обнаружил интересный факт: если изолированное от цитоплазмы ядро подвергать облучению в дозе 30 000 *p*, то не удастся наблюдать каких-либо видимых под микроскопом изменений. Если же изолированное ядро ввести в цитоплазму клетки и облучать эту реконструированную систему, то уже при значительно меньших дозах можно видеть характерные для лучевого поражения изменения ядра: пикноз, вакуолизацию, повреждение ядрышка и т. д. [6].

Аналогичные симптомы поражения ядра можно было наблюдать инъецируя в здоровую клетку около  $10^{-4}$  мл цитоплазмы, взятой из облученного за несколько дней яйца. Наконец, пересадка нормального ядра в облученное яйцо также приводила к появлению всех признаков лучевого поражения вплоть до хромосомных фрагментаций.

Позднее Дюри повторил эти эксперименты с  $\beta$ -лучами от  $P^{32}$  и получил аналогичные результаты. Автор приходит к выводу об образовании в облученной цитоплазме токсических продуктов нарушенного обмена, их быстрой диффузии к ядру, где наблюдаемые изменения являются уже результатом воздействия этих веществ [7]. Аналогичные результаты получил и Накао [8] при облучении цитоплазмы тутового шелкопряда.

Орд и Даниелли [9], пересаживая ядра нормальной амебы в облученную цитоплазму, также наблюдали токсический эффект.



Если  $LD_{50}$  при облучении ядер в амебе составляла 120 кр, то внесение здоровых ядер в цитоплазму, облученную в дозе 290 кр, вызывало полную картину лучевого поражения ядер. Эти эксперименты со всей ясностью говорят об исключительном значении аномальных продуктов обмена, образующихся в цитоплазме, для лучевого поражения ядра клетки, причем их действие проявляется при значительно меньшей дозе, если и само ядро получило радиационное поражение. Большой интерес представляют также опыты Даниелс [10, 11], показавшие, что введение небольших порций необлученной цитоплазмы в тотально облученную многоядерную амебу (*Pelomyxa mindensis* и *P. carolinensis*) приводило к полному «выздоровлению» облученной амебы. Разделяя центрифугированием органеллы плазмы, Даниелс показал [12], что «терапевтическим» действием обладает безъядерная и освобожденная от митохондрий цитоплазма.

В свете этих экспериментов могут получить иное толкование многочисленные опыты с использованием микропучков (например, Блум и Циркль [13], Циркль [14] и другие), показавшие большую поражаемость ядра при его облучении и отсутствие поражения при облучении цитоплазмы. Во всех этих опытах при облучении микропучком цитоплазмы неизбежно оставалась значительная ее часть, причем непосредственно прилегающая к ядру, необлученной, а как показал Даниелс, она обладает способностью восстанавливать поражение. С другой стороны, при облучении ядра неизбежно облучалась и часть прилегающей к нему цитоплазмы и наблюдаемые изменения могли явиться следствием воздействия измененных метаболитов цитоплазмы на частично поврежденное ядро.

Об активности образующихся в облученной клетке метаболитов по отношению к нуклеопротеидам можно заключить по опытам Лебан и других [15], показавших, что облучение кишечной палочки тормозит размножение в ней бактериофага, что было подтверждено и другими исследователями [16].

Возникновение при облучении цитоплазмы веществ, дезорганизирующих обмен в ядре и тем самым усиливающих, а иногда вызывающих его «лучевые» поражения, по-видимому, происходит в различных клетках различно, чем можно объяснить противоречивые результаты, полученные на различных объектах например, яйцах насекомых (*Nabrobgrason*), на амебах и на яйцеклетках амфибий.

Нами уже приводились выше эксперименты, проведенные в нашей лаборатории Будиловой [17]. Облучая изолированные ядра из клеток тимуса и наблюдая включение в ДНК меченного  $C^{14}$  аденина, она не смогла обнаружить угнетения этого процесса при дозах в 1000 р. В то же время при той же дозе облучения целого животного и последующего изолирования ядер они



уже не могли включить аденин с прежней интенсивностью. Во втором случае облучались и ядра и окружающая их цитоплазма. Естественно возникает предположение, что нарушение синтеза ДНК в значительной мере усилено токсическими метаболитами, образующимися в цитоплазме.

Это предположение подтверждается опытами Ленкера [18], также наблюдавшего снижение включения в ДНК меченых предшественников при помещении изолированных ядер регенерирующей печени в цитоплазму, извлеченную из регенерирующей печени облученных животных.

Дистанционный эффект облучения, не раз наблюдавшийся на животном организме (работы Неменова [19], Стрелина [20, 21], Кузина и Будиловой [22], Синовского [23], Охотского [24], Кузнецова [25], Шмидт [26], Роде [27], Мюллер [28], Александрова [29], Хевеши [30], Холмс [31] и других), многими трактовался как результат действия первоначально возникших аномальных метаболитов. Однако наличие нейрогуморальных связей в животном организме не позволяет прийти к однозначному выводу. Вот почему обнаружение нами дистанционного эффекта у растений имело, как нам кажется, принципиальное значение для развития учения об аномальных метаболитах, возникающих в тканях под влиянием облучения. Нами совместно с Крюковой [32] было показано, что локальное облучение листа у молодых растений *Vicia faba* ведет через 24 часа к резкому торможению митозов в защищенных от облучения верхушечных точках роста и в меристемной ткани корешка.

Интересно, что если после локального облучения листа его тотчас же отрезать, то никакого угнетения митозов не наблюдается, что снимало предположение о недостаточности экранировки точек роста. Если удаление листа провести через 4 часа после облучения, то уже видно статистически достоверное угнетение митозов в точках роста, увеличивающееся при более позднем удалении.

Экспериментальные данные приведены в табл. 56 [32].

Из данных этих опытов можно было предположить, что под влиянием локального облучения в клетках листа нарушаются нормальные процессы обмена и появляются вещества (появляются вновь или увеличиваются концентрации нормально существующих), которые, протекая с ассимилятом к точкам роста, тормозят митотическую активность.

Исходя из этого предположения, была предпринята серия экспериментов по извлечению этих веществ из облученных листьев и испытанию действия получаемых экстрактов на митотическую активность корешков, погруженных в эти экстракты, и на развитие проростков [32—35]. Было показано отчетливое угнетение развития проростков выращиваемых на экстрактах из облученных растений.



Таблица 56

Влияние времени удаления облученного (10 тыс. р) листа *Vicia faba* на процент митозов в точках роста

Условия	Время удаления листа	В точке роста				В кончике корня			
		число просчи- танных клеток	число МИТО- ЗОВ	% митозов R	% к конт- ролю	число просчи- танных клеток	число МИТО- ЗОВ	% митозов R	% к конт- ролю
Контроль Облучение	Сразу после облучения	2659	151	$5,7 \pm 0,4$	} — 103,5	1353	108	$8,0 \pm 0,7$	} — 111,0
		3073	181	$5,9 \pm 0,4$		1493	133	$8,9 \pm 0,7$	
Контроль Облучение	Через 4 часа после облучения	3465	190	$5,5 \pm 0,4$	} 4,0 62,8	1519	110	$7,3 \pm 0,6$	} 1,2 86,3
		3598	122	$3,4 \pm 0,3$		1325	84	$6,3 \pm 0,6$	
Контроль Облучение	Через 24 часа после облучения	3396	183	$5,4 \pm 0,4$	} 7,5 37,0	1896	149	$7,8 \pm 0,5$	} 4,4 60,2
		3066	62	$2,0 \pm 0,2$		1695	79	$4,7 \pm 0,5$	
Контроль Облучение	Лист не удален	2965	177	$6,0 \pm 0,4$	} 4,0 57,0	1676	150	$8,9 \pm 0,6$	} 4,6 51,9
		2885	98	$3,4 \pm 0,4$		1631	75	$4,6 \pm 0,5$	



Определение митотического индекса дало следующую картину:

	Число клеток		Митотический индекс
	всего	делящихся	
Контроль в водопроводной воде . . . . .	1102	76	$6,9 \pm 0,7$
Контроль в экстракте из нормального листа	979	56	$5,7 \pm 0,7$
Опыт в экстракте из облученного листа . .	1000	17	$1,7 \pm 0,4$

Из полученных данных видно, что экстракты из нормальных взрослых листьев (где, как известно, деление клеток заторможено) снижали митотический индекс в меристемной ткани корней. Это снижение было значительно более выражено при использовании экстрактов из облученных листьев. Это приводило нас к выводу, что вещества, тормозящие митозы, в норме присутствуют во взрослом листе растения, но их образование резко ускоряется при облучении. Чтобы проверить радиочувствительность этого процесса активации, эксперимент был повторен при различных дозах облучения, начиная с 10 и кончая 25 000 р. Результаты опытов представлены на рис. 115.

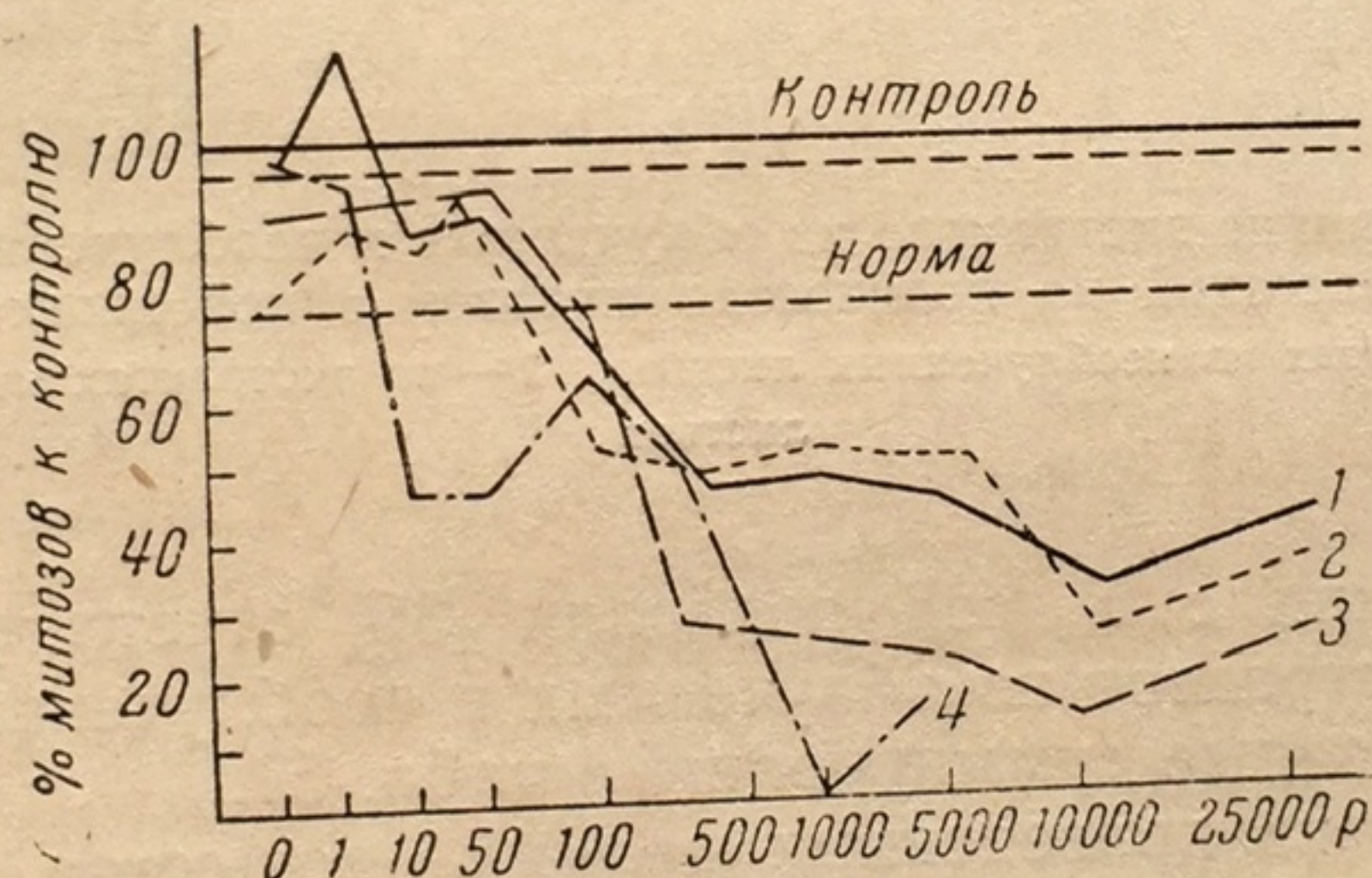


Рис. 115. Зависимость образования антимитотических веществ от дозы облучения. Норма — делящиеся клетки в корешках, растущих на экстрактах из необлученных листьев (в %) 1, 2, 3, 4 — повторности опытов

Из данных рис. 115 видно, что облучение уже в дозе 100 р вызывает некоторое увеличение содержания антимитотиков в облученном листе, которое продолжает возрастать до облучения при дозе в 500 р, после чего нам не удавалось обнаружить дальнейшего возрастания.

Появление угнетающих митозы веществ во взрослых листьях облученных растений характерно не только для *Vicia faba*. Эксперименты, проведенные на 9 различных растениях, дали



аналогичный результат, что ясно видно из рис. 116, суммирующего эту серию опытов [34].

Наличие большей антимитотической активности у водных экстрактов из облученных растений можно было обнаружить после стерилизации этих экстрактов нагреванием и удаления свернувшихся белков. Образование в листьях *Vicia faba* после их облучения, веществ, угнетающих митозы, и деление клеток было показано на ряде биологических объектов.

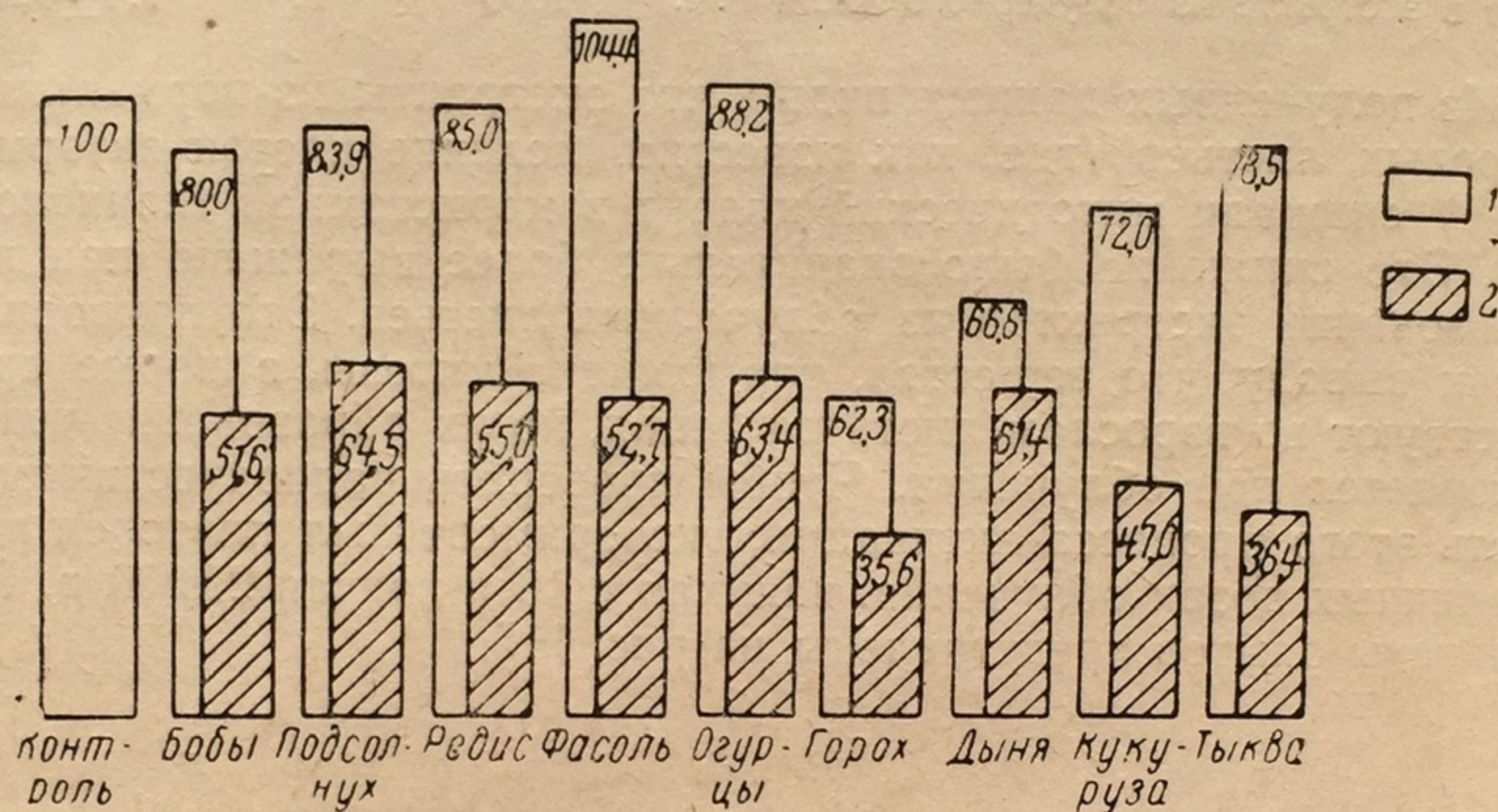


Рис. 116. Влияние экстрактов из облученных и необлученных листьев различных растений на количество митозов в корешках *Vicia faba* 1 — на экстрактах из необлученных листьев; 2 — на экстрактах из облученных листьев

Исследования с *E. coli* показали [36] отчетливое различие в действии экстрактов из облученных и необлученных растений. Полученные данные суммированы в табл. 57.

Как видно из приведенных данных, вещества, образуемые под влиянием облучения, резко угнетают способность клеток

Таблица 57

Влияние экстрактов из облученных и необлученных листьев *Vicia faba* на *E. coli*

Взято клеток в опыт	Число способных к размножению клеток через 2 часа роста		
	на воде (контроль)	на экстрактах	
		из нормальных листьев	из облученных листьев
470	1671	455	186
100%	355	97	40
543	1779	467	203
100%	330	86	37



*E. coli* к размножению, т. е. оказывают эффект, аналогичный действию радиации.

Копылов обнаружил замедление роста молодых мышей под влиянием подкожного введения экстрактов из облученных растений [37].

Крюкова, Ломакин и Кузин [38] исследовали действие экстрактов на рост карциномы Герена в условиях культуры тканей. Полученные ими результаты приведены на рис. 117.

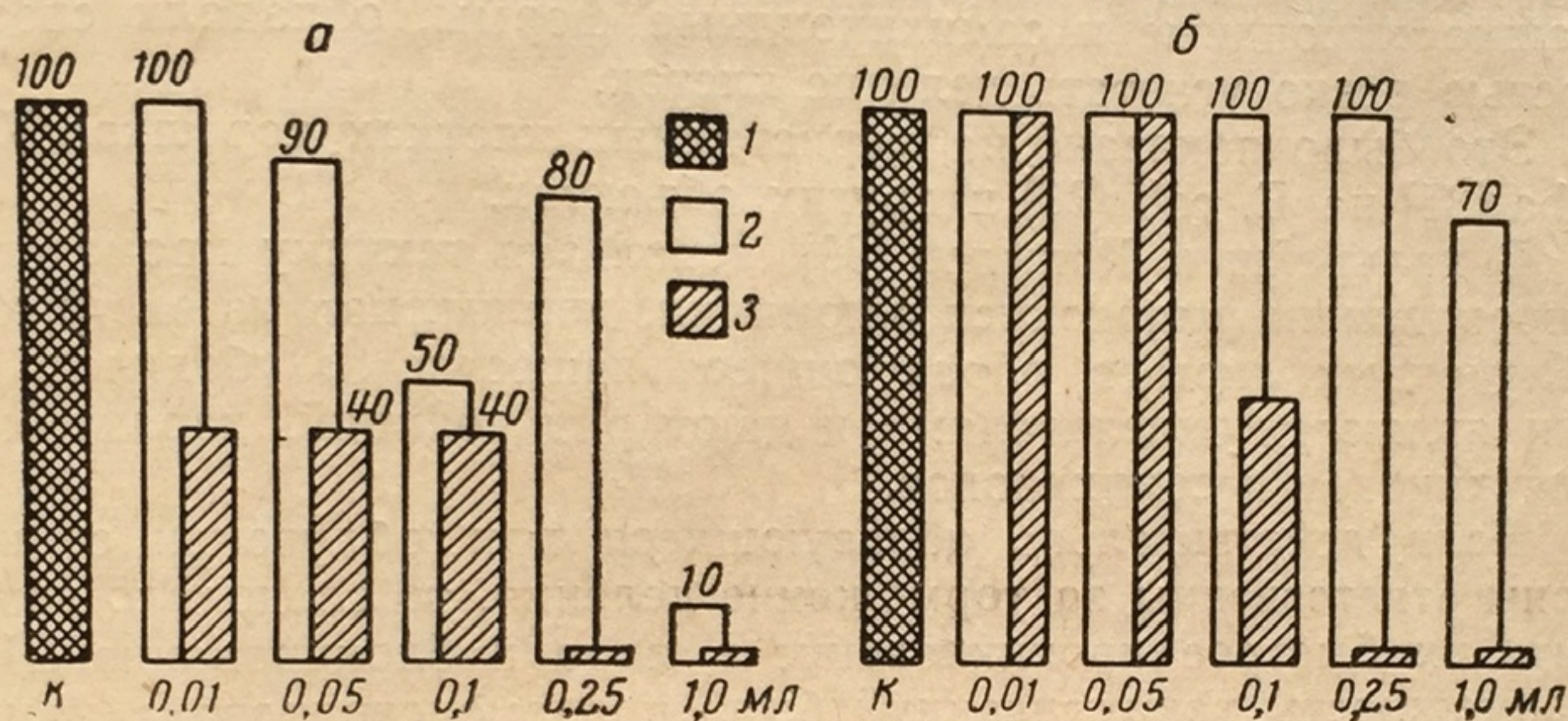


Рис. 117. Действие различных количеств экстрактов (в мл) из облученных и необлученных листьев *Vicia faba* на рост карциномы Герена в условиях культуры ткани — на 3-й день (а), и 6-й день (б)

1 — контроль; 2 — необлученные; 3 — облученные

Из этих данных отчетливо видно различное действие экстрактов из нормальных и облученных растений. При определенном разведении экстрактов из необлученных листьев можно было наблюдать отсутствие угнетения роста, в то же время почти полностью подавляется рост опухолевой ткани под влиянием экстракта из облученных листьев. Все эти опыты убедительно говорили об образовании под влиянием облучения метаболитов, угнетающих деление клеток.

Какие же процессы возникают в облученном листе и приводят к появлению токсических метаболитов? Исследования, проведенные в нашей лаборатории [35], показали, что в облученных листьях значительно активируются процессы окисления. Более интенсивное побурение экстрактов из облученных листьев и более интенсивная качественная реакция на фенолы наводили на мысль об активации окисления фенольных соединений.

Наблюдение за окислением искусственно добавляемых фенолов показало, что в облученных экстрактах происходит значительно более быстрое окисление тирозина с образованием меланотенинов, т. е. имеет место либо активация полифенолоксидаз, либо образование промежуточных хиноноподобных веществ, каталитически ускоряющих окисление фенолов.



Естественно возникало предположение, не являются ли эти промежуточно возникающие хиноны именно теми веществами, которые угнетают митозы и деление клеток.

Модельные эксперименты с продуктами ферментативного окисления тирозина отчетливо показали, что в то время как сам тирозин и продукты его окончательного окисления — меланины — не обладали антимитотическими свойствами, промежуточные продукты ферментативного окисления, как известно содержащие хиноидные и семихиноидные формы, обладали способностью резко угнетать деление клеток.

Это было показано на меристемных клетках корешков *Vicia faba* [35] на *E. coli* [36] и других объектах.

В дальнейшем Копылов [39], используя технику хроматографирования на гидроокиси алюминия, изолировал из экстрактов облученных листьев образующиеся вещества и убедился, что они являются окислителями и дают ряд реакций, характерных для хинонов и семихинонов.

Если действительно образующиеся при облучении семихиноны ответственны за торможение деления, то следовало допустить их быстрое проникновение в ядро и блокирование ДНК. Возможность таких реакций была продемонстрирована нами в модельных экспериментах. Мы добавляли к раствору высокополимерной ДНК тирозин или продукты его ферментативного окисления и в их присутствии подвергали ДНК  $\gamma$ -облучению. Были получены следующие результаты (табл. 58 [35]).

Таблица 58

Изменение вязкости 0,02%-ных растворов высокополимерной ДНК (Мол. в. = 8 млн.) при облучении 5000 p в присутствии различных добавок

Состав облучаемого раствора	Приведенная вязкость, %	Эффект защиты по отношению к контролю
ДНК (необлученная) . . . . .	$100 \pm 2,0$	—
ДНК (облученная) . . . . .	$40 \pm 2,5$	—
ДНК + тирозин . . . . .	$35 \pm 3,5$	0
ДНК + тирозиназа инактивированная . . . . .	$52 \pm 1,2$	20
ДНК + (тирозин + тирозиназа после суток стояния) . . . . .	$100 \pm 0,5$	100
ДНК + отдиализованные высокополимерные меланины . . . . .	$52 \pm 3,5$	20
ДНК + низкомолекулярные семихиноны . . . . .	$101 \pm 1,0$	100

Как видно из этих экспериментов, промежуточные продукты окисления тирозина семихиноидной природы обладают способностью защищать ДНК от облучения, по-видимому, соединяясь с ДНК и принимая на себя поглощенную энергию радиации. Для



подтверждения выдвигаемой гипотезы были поставлены эксперименты с изолированными ядрами тимуса, на которых исследовалось включение фосфатов, меченных  $P^{32}$ . Было показано [40], что в присутствии экстрактов из облученных листьев процесс включения  $P^{32}$  угнетается более чем на 40% по отношению к контрольным опытам с экстрактом из нормальных необлученных листьев.

Наблюдалось и мутагенное действие метаболитов, образующихся в облученном растении [41].

Таким образом, в настоящее время имеется большое количество наблюдений, подтверждающих образование под влиянием облучения в растительной ткани аномальных метаболитов хиноидной или семихиноидной природы, активно блокирующих ряд процессов в ядре клетки и тем самым угнетающих ее деление.

Аналогичные по биологическим свойствам вещества были обнаружены и в облученной ткани животного происхождения.

Так, например, было показано, что трансплантат ткани аксолотля гибнет быстрее на облученных тканях, чем на необлученных [42]. В ряде работ отмечалось, что локальное облучение ткани перед прививкой опухоли заметно тормозило последующий рост опухоли из необлученных опухолевых клеток [43, 44]. Ткань эмбриона, облученная в яйце в дозе 2500 р, заметно тормозила последующий рост вируса [45]. Сбитнева и Шиходыров наблюдали изменения в рыхлой соединительной ткани под влиянием экстрактов из тканей кишечника облученных мышей, сходные с нарушениями, наблюдаемыми при лучевом поражении [46]. Корогодиным [47] было показано появление в ткани печени через 4 часа после облучения животного веществ, тормозящих скорость прорастания ряда семян.

Мочалина [48] обнаружила в печени облученных животных появление веществ, обладающих гемолитическими свойствами.

Было показано нарастание содержания этих веществ во времени после облучения. Подробное исследование этого феномена [49—53] позволило Б. Н. Тарусову высказать гипотезу о накоплении гемолизинов в облученных тканях в результате цепных самоускоряющихся реакций. Тарусов приходит к выводу, что гемолизины, обладая цитотоксическими свойствами, играют определенную роль в патогенезе лучевого поражения. Было показано, что гемолизины являются ненасыщенными жирными кислотами.

В настоящее время еще не ясно, действительно ли гемолизины накапливаются в печени в результате самоускоряющейся химической реакции, идущей независимо от обмена, или, что нам кажется более правдоподобным, они накапливаются благодаря общему нарушению обмена липидов в процессе лучевого поражения. Факт накопления в ткани печени цитотоксических веществ,



подробно изученных школой Тарусова, не подлежит сомнению.

Гемолизины, благодаря высокому молекулярному весу или вследствие связи с белками, не поступают в кровь облученного животного. В то же время многочисленные наблюдения убедительно говорят об образовании в тканях легко диффундирующих токсических метаболитов, переходящих из тканей в кровь и обычно обнаруживаемых в крови. Для обнаружения токсических метаболитов в крови были использованы весьма различные методы. Было показано, что в среде, содержащей сыворотку крови облученного животного, происходит задержка развития бактерий [54]. Переливание крови облученного животного необлученному в первые часы после облучения вызывало лейкопению [26].

Исследования, проведенные на собаках Бугловым с сотрудниками [55] показали, что переливание крови, взятой в течение первых двух часов после облучения от собак, облученных в больших дозах (2160 p), вызывали у реципиента сдвиги в составе крови, близкие к изменениям, обнаруживаемым после малых доз облучения.

Особенно характерным является постепенное нарастание эффекта, так, например, количество лейкоцитов на 4-й день после переливания было на 23% ниже нормы, на 5-й день — на 40%, на 7-й день — на 43% и затем медленно (к 15-му дню) возвращалось к норме. Наблюдалось также уменьшение количества гемоглобина и эритроцитов на 10—15% с 10—15-го дня и до 2 месяцев и другие характерные симптомы.

Эти данные убедительно говорят о появлении специфических токсических веществ в крови в первые часы после облучения.

В наших исследованиях совместно с Арутюновой [56] было показано, что переливание крови от облученных мышей к нормальным закономерно снижает у последних активность каталазы печени, что всегда наблюдается при общем облучении животного. Было показано, что токсический фактор, вызывающий это явление, находится в крови лишь в первые часы после облучения и обладает низкомолекулярной, небелковой природой.

Было показано появление в крови веществ, обладающих вазодепрессорным действием, в первые сутки после облучения [57].

На возможность образования в тканях и крови облученных животных гистаминоподобных веществ указал в своей монографии Левис [58], который основывался на сходстве реакции кожи при воздействии на нее различными физическими факторами, в том числе и рентгеновыми лучами, с реакцией кожи на введение гистамина. Образование в плазме облученных кроликов токсических веществ, подобных гистамину, было обнаружено в опытах Пайнтера и других [59], отметивших действие такой плазмы на сокращение слепой кишки морской свинки.



Эллинггер [2], развивая гистаминную теорию действия ионизирующих излучений, указывает, что образование гистамина при облучении может идти различными путями. В небольших количествах гистамин широко распространен и находится во всех органах человека и животных [60]. Наибольшие количества его содержатся в коже, легких и печени. Находясь в тканях в связанном состоянии [61, 62], он легко отщепляется при слабом кислотном гидролизе, приобретая все свойства свободного гистамина. Эллинггер допускает, что при облучении происходит аналогичное освобождение гистамина с последующим его распространением по организму. Было обнаружено повышение содержания гистамина в крови лиц, подвергавшихся рентгенотерапии [63], в плазме у крыс, получивших дозу ДЛ<sub>50</sub> рентгеновых лучей [64].

Образование гистаминоподобных веществ в крови и тканях облученных животных было показано на большом экспериментальном материале Кричевской [65].

В ряде работ образование токсических веществ в крови было показано методом парабиоза [66—68]. Колпаков и Ходос [68], наблюдая у необлученного парабионта при облучении его партнера временный лейкоцитоз, сменявшийся затем лейкопенией, нашли, что это явление имеет место, даже если прервать связь между парабионтами спустя 20 мин. после облучения. Следовательно, токсические вещества, образовавшиеся в первые минуты после облучения, подействовав на систему кроветворения необлученного животного, вызвали последующее длительное изменение ее функций.

Токсические свойства крови облученных животных были детально исследованы Горизонтовым с сотрудниками [69—72].

Было показано, что кровь, оттекающая от различных органов облученного животного, обнаруживает различия. Так, например, кровь, оттекающая от головы облученного животного, вызывает резкие изменения в состоянии сердечно-сосудистой системы реципиента, а кровь, оттекающая от ноги, обладает свойствами вызывать лейкопению.

Горизонтов приходит к выводу о возможном наличии в крови облученных животных различных токсических компонентов в различные сроки и в различных участках организма. Токсические вещества были обнаружены и в моче облученных животных. Комса [73], вводя мочу морских свинок после их облучения в дозе 300 р здоровым животным, наблюдал их гибель, при отсутствии отравления в контроле. Бургер и Леман на крысах показали [74] значительно бóльшую токсичность мочи облученных крыс, чем здоровых. При введении облученным крысам перистона (растворимого полимера, способствующего выведению токсических веществ с мочой) токсичность мочи значительно повышалась.



Приведенные выше материалы с убедительностью показывают, что в клетке, ткани, гуморальной системе целого организма вскоре после облучения появляются аномальные продукты обмена, обладающие токсическим действием на те или иные жизненные процессы. Это, по-видимому, не какое-то одно определенное вещество, а множество веществ, отличающихся друг от друга в такой же степени, как характер обмена одних клеток, одних тканей отличается от других.

Можно ли согласиться с утверждением Тарусова [75], что те нарушения обмена, которые быстро исчезают, что те токсины, количество которых не нарастает прогрессивно в ходе лучевого поражения, не могут быть причиной последнего и не представляют особого интереса для понимания механизмов развития лучевой болезни?

Нам кажется это положение весьма спорным. Токсическое вещество, возникнув на какой-то стадии нарушения обменных процессов, может быть быстро сорбировано определенной тканью, определенными внутриклеточными структурами.

Токсин исчез, но вызвал блокирование каких-то реактивных систем, что углубило расстройство обмена и привело к появлению еще (и, быть может, не одного) аномального метаболита. Они, в свою очередь, смогли оказать воздействие на другие системы. Первоначальные вещества, быстро исчезнув, будут все же являться причиной нарастающих изменений и даже гибели организма.

При облучении мы, по-видимому, имеем дело не с цепными разветвленными реакциями, в результате которых нарастает содержание гипотетического универсального «радиотоксина», а с цепными биохимическими процессами, захватывающими (при тотальном облучении организма) все большую сферу действия, что и может привести в конечном результате организм к гибели. Возникающие вскоре после облучения аномальные метаболиты играют, по-видимому, существенную роль в развитии лучевого поражения [76].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. E. Caspary. Strahlentherapie, 18, 17, 1924.
2. H. Pfeiffer. Krankheitsforschung, 1, 45, 1952; H. Zeichner. Strahlentherapie, 23, 272, 1926; E. L. Jenkinson, M. D. Brown. Amer. J. Rontgenol., 51, 4, 496, 1944.
3. F. Ellinger. Die biologische Grundlagen der Strahlenbehandlung. Berlin, 1935.
4. Б. Н. Тарусов. В сб.: Первичные процессы лучевого поражения. Медгиз, 1957, стр. 3.
5. Z. M. Vascq, P. Alexander. Fundamentals of radiobiology, 2nd ed. London, N. Y., Paris, 1961.
6. W. R. Duryee. J. Nat. Cancer Inst., 10, 735, 1944.



7. W. R. Duryee. Цит. по кн. Z. Bacq, P. Alexander [5].
8. J. Nakao. Nature, 172, N 4379, 625, 1953.
9. M. J. Ord, J. E. Danielli. Quart. J. Microscop. Sci., 97, 29, 1956.
10. E. W. Daniels. J. Exp. Zool., 117, 189, 1951; 120, 509, 525, 1952; 127, 427, 1954; 130, 183, 1955; 137, 425, 1958.
11. E. W. Daniels, H. H. Vogel. Second Internat. Conf. on Peaceful Uses of Atomic Energy. Geneva, 1958, p. 907.
12. E. W. Daniels, H. H. Vogel. Radiation Res., 10, 584, 1959.
13. W. Bloom, R. E. Zirkle. Anat. Rec., 115, 2, 446, 1953.
14. R. E. Zirkle. J. Cellular a. Compar. Physiol., 2, 251, 1932.
15. L. W. Laban, V. M. Mosley, R. W. Wickoff. J. Bacteriol., 65, 3, 330, 1953.
16. F. Hercik. Abstracts. of Contributed. Papers of Internat. Biophys. Congr. Stockholm, 1961, p. 94.
17. Е. В. Будилова. Радиобиология, 2, 32, 1962.
18. J. L. Lancker. Biochim. et biophys. acta, 47, 57, 1960.
19. М. Н. Неменов. Рентгенотерапия через воздействие на нервную систему. М., Медгиз, 1950.
20. Г. С. Стрелин. В сб.: Биохимическое действие ионизирующих излучений, Медгиз, 1954, стр. 17.
21. Г. С. Стрелин. Докл. АН СССР, 73, 1283, 1950.
22. А. М. Кузин, Е. В. Будилова. Докл. АН СССР, 41, 5, 1183, 1953.
23. П. В. Синовский. Вестник рентгенол. и радиол., 13, 263, 1934.
24. А. А. Охотский. Вестник рентгенол. и радиол., 16, 381, 1936.
25. Н. Н. Кузнецова. О роли гуморальных факторов в реакции организма на воздействие ионизирующей радиации. Дисс. М., 1957.
26. Н. Н. Шмидт. Докл. АН СССР, 59, 4, 747, 1948.
27. J. Rode. Strahlentherapie, 81, 103, 1950.
28. J. Muller. Nature, 178, 4523, 43, 1956.
29. С. Н. Александров. Докл. АН СССР, 113, 2, 311, 1957.
30. G. Hevesy. Rev. Modern Phys., 17, 102, 1945.
31. B. E. Holmes. Brit. J. Radiol., 22, 487, 1949.
32. Л. М. Крюкова, А. М. Кузин. Биофизика, 5, 449, 1960.
33. А. М. Кузин, Л. М. Крюкова, Г. Н. Саенко, В. А. Языкова. Биофизика, 4, 350, 1959.
34. Л. М. Крюкова. Радиобиология, 1, 139, 1961.
35. А. М. Кузин, Л. М. Крюкова, В. А. Копылов, И. К. Коломийцева, В. А. Стручков. Труды Киевской конф. по радиобиологии. Май, 1960.
36. А. М. Кузин, Н. Б. Горкина, В. А. Копылов, Л. М. Крюкова. Радиобиология, 1, 659, 1961.
37. В. А. Копылов. Радиобиология, 1, 358, 1961.
38. Л. М. Крюкова, М. С. Ломакин, А. М. Кузин. Радиобиология, 1, 365, 1961.
39. В. А. Копылов, А. М. Кузин. Радиобиология, 2, 681, 1962.
40. А. М. Кузин, Ч. Августини, В. А. Копылов, Е. В. Будилова. Радиобиология, 1, 856, 1961.
41. А. М. Кузин, Л. М. Крюкова. Докл. АН СССР, 137, 970, 1961.
42. J. Piatt, A. Raventos. J. Exp. Zool., 124, 167, 1953.
43. K. W. Stenstrom, H. Vermund, D. G. Mosser, J. F. Marvin. Radiation Res., 2, 180, 1955.
44. H. Vermund, K. W. Stenstrom, F. G. Mosser, E. A. Johnson. Radiation Res., 5, 354, 1956.
45. N. J. Schneider, F. S. Cheener. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 86, 3, 591, 1954.
46. М. П. Сбитнева, В. В. Шиходыров. Цит. по П. Д. Горизонтову. Мед. радиология, 4, 5, 1959.
47. В. И. Корогодина. Цит. по сб.: Первичные процессы лучевого поражения. Медгиз, 1957, стр. 115.



48. А. С. Мочалина. Сб. Первичные процессы лучевого поражения. Медгиз, 1957, стр. 62.
49. А. И. Поливода. Сб.: Первичные процессы лучевого поражения. 1957, стр. 30.
50. Л. Л. Хамайде. Сб.: Первичные процессы лучевого поражения. 1957, стр. 79.
51. Ю. Б. Кудряшов. Сб.: Первичные процессы лучевого поражения. 1957, стр. 90.
52. В. Н. Беневоленский. Сб.: Первичные процессы лучевого поражения. 1957, стр. 105.
53. А. П. Казанцев. Сб.: Первичные процессы лучевого поражения. 1957, стр. 132.
54. E. H. Groul. Abstracts of Contributed. Papers Internat. Biophys. Congr., Stockholm, 1961, p. 123.
55. Е. Д. Буглов, С. Н. Довгалева, В. Т. Караваев. Мед. радиол., 4, 8, 57. 1959.
56. А. М. Кузин, М. Б. Арутюнова. В сб.: Действие ионизирующих излучений на биологические объекты. М., 1956, стр. 84.
57. T. G. Haley, M. R. Andem, K. F. Riley, G. Williams. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 72, 793, 547, 1952.
58. Th. Lewis. The bloodvessels of the human skin and their responses. London, 1927.
59. E. Painter a. oth. Physiological observations of rabbits exposed to single doses of X-rays (MDDS 761) N. Y., 1946.
60. F. Gaddum, H. Dale. Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe. Leipzig, 1936.
61. K. Urbach. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70, 146, 1949.
62. N. Fell. Ann. N. Y. Acad. Sci. 50, 1077, 1950.
63. G. Segal. C. r. Soc. biol., 131, 1079, 1939.
64. R. Weber, F. Steggerda. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 70 261, 1949.
65. Е. Н. Кричевская. В сб.: Радиобиология. М., 1958, стр. 127.
66. H. G. Zwerg. Strahlentherapie, 45, 297, 1932.
67. D. C. Dyke, R. L. Huff. Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med., 72, 266. 1949.
68. И. В. Колпаков, В. Н. Ходос. Архив патологии, 1, 25, 1949.
69. П. Д. Горизонтов. Архив патологии, 4, 3, 1955.
70. П. Д. Горизонтов. Мед. радиология, 4, 1, 5, 1959.
71. П. Д. Горизонтов. В кн.: Радиационная медицина. Атомиздат, 1960, стр. 112.
72. Г. П. Груздев. Труды Всесоюз. конф. по мед. радиологии. Секция эксперим. радиол., М., 1956, стр. 29.
73. J. Comsa. Ann. Endocrinol., 13, 6, 931, 1952.
74. H. Burger, V. Lehman. Naturwissenschaften, 8, 190, 1954.
75. Б. Н. Тарусов. Основы биологического действия ионизирующих излучений. Медгиз, 1954, стр. 55 и след.
76. А. М. Кузин. Радиобиология 2, 340, 1962.

БИОФИЗИКА  
ЛУЧЕВОГО

Д ля пон  
ки, на  
поглощ  
лений (в ви  
до ее гибел  
ные подходы  
Большой  
зависимосте  
го воздействи  
или иными  
прекращени  
Много б  
зависимосте  
созданию т  
объеме, об  
Эти теории  
величин ма  
или несколь  
их биологи  
Однако,  
популяции  
лись в том,  
чивают реа  
лекул и стр  
экспоненци  
получаемые  
сигмоидные  
[1, 2]. Это п  
сит от усло  
дествлять  
следовател  
диационны



## БИОФИЗИКО-ХИМИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ЛУЧЕВОГО ПОРАЖЕНИЯ КЛЕТКИ

**Д**ля понимания сложной картины лучевого поражения клетки, начиная с момента поглощения и трансформации поглощенной энергии и до видимых биологических проявлений (в виде нарушения структуры и функций клетки вплоть до ее гибели), различные исследователи использовали различные подходы, методы и рабочие гипотезы.

Большой цикл исследований был проведен для установления зависимостей между параметрами первоначального физического воздействия (доза, мощность, плотность ионизации) и теми или иными биологическими последствиями (разрывы хромосом, прекращение деления, снижение дыхания, гибель клетки и др.).

Много было сделано для математического выражения этих зависимостей. Такой физико-математический анализ привел к созданию теории мишени, представлениям о чувствительном объеме, об одноударном и многоударном действии радиации. Эти теории оказались весьма плодотворными при исследовании величин макромолекул и вирусов, попадание в которые одной или нескольких ионизирующих частиц приводило к инактивации их биологических свойств.

Однако, уже применяя эти теории к однородной клеточной популяции (микроорганизмы), исследователи все более убеждались в том, что понятия мишени, чувствительного объема утрачивают реальный смысл, не отражают состояния реальных молекул и структур, исследуемых в клетках. Было показано, что экспоненциальные кривые зависимости выживаемости от дозы, получаемые для микроорганизмов, могут быть превращены в сигмоидные изменением среды существования микроорганизма [1, 2]. Это приводило к выводу, что число мишеней в клетке зависит от условий существования культуры, и не позволяло отождествлять мишень с геном, что ранее принималось многими исследователями. Многочисленные данные показали, что пострадиационными воздействиями на клетку возможно изменять



эффект, радиации [3], явление, не объяснимое с той точки зрения, что поражение какой-то уникальной структуры определяет все последующие процессы в клетке. Изменение радиочувствительности в различные фазы существования клетки, а также неодинаковая радиочувствительность различных клеток приводили к представлениям о резком различии в них «чувствительного объема», что не соответствовало всем нашим представлениям о реальном строении клетки, о реальных величинах молекул и структур, определяющих жизнь клетки.

Само представление «удара» как попадания частицы в какую-то область, в результате которого происходит развал структуры (например, разрыв хромосом с последующим образованием мостов и т. п.), подменяет сложные процессы, идущие в действительности в облученной клетке, грубо механистической моделью. Несостоятельность этих взглядов следует хотя бы из того, что ряд других воздействий (химические мутагены, вибрация, невесомость [4, 5] и другие), не объяснимых с позиций локального удара, наносят клетке аналогичные повреждения.

Хорошо известно [6], что типичные экспоненциальные кривые выживаемости бактерий были получены при изменении концентрации или времени действия различных ядов, и что при незначительном изменении условий среды эти кривые также легко превращаются в сигмоидные. Это еще раз подчеркивает невозможность по характеру кривой судить об истинных процессах, происходящих в живой клетке при действии того или иного агента. Критика теории мишеней для организмов исчерпывающе дана в монографии Бака и Александера [7].

Невозможность понимания процессов, идущих в облученной клетке, только с позиций физических представлений, побудила ряд исследователей искать ответа в данных радиационной химии. Ранее мы уже видели, как трудно только на основе этих данных объяснить факты, наблюдаемые при облучении живых организмов. Белки-ферменты, легко разрушаемые в чистом кристаллическом состоянии в разбавленных растворах, оказываются устойчивыми при облучении живого организма, а подчас даже увеличивают свою активность, что никогда не наблюдалось в радиационно-химических исследованиях. Деполимеризация ДНК *in vitro* и *in vivo* идет при различных дозах облучения и вызывается, по-видимому, различными причинами. Такие примеры могут быть умножены. Хотя радиационно-химические исследования в значительной степени способствовали более глубокому пониманию процессов, происходящих при облучении живой клетки, они не смогли дать удовлетворительного объяснения основных закономерностей биологического действия радиации.

Исследователи, работающие в области радиационной химии, имея дело с гомогенными растворами или сухими веществами,



выдвинули представления о прямом и непрямом действии радиации. В клетке вещества находятся в структурированном состоянии, причем вода принимает непосредственное участие в построении этих структур. Поэтому проблема прямого и непрямого действия приобретает новые особенности при рассмотрении живых систем. С чисто химических, так же как и чисто физическо-логического действия радиации, так как нельзя было игнорировать специфику живых систем, которая заключается в неразрывной связи структуры с обменом веществ. Биохимическая интерпретация биологического действия радиации, базирующаяся только на изучении обмена веществ, значительно ближе подходит к решению задачи, однако и она не в силах раскрыть явления до конца, если не будет учитывать всю сложную структурированность живой системы, чрезвычайную подвижность и в то же время устойчивость этих систем и неразрывную связь живых структур с обменом веществ, т. е. всю специфику живого.

Из всего сказанного выше следует, что только комплексный биофизико-химический подход (чисто морфологические аспекты включены в понятие биологических) может правильно отразить те сложные явления, которые возникают в облученной клетке.

Эти соображения только в последние годы начинают проникать в радиобиологию. Представление о роли нарушения обменных процессов при радиационном повреждении клетки, правда, в очень примитивном и схематичном виде, мы находим у Циркля в 1952 г. [8].

Взгляды Циркля находят отражение в схеме, представленной на рис. 118. Как видно из этой схемы, автор предоставляет ведущую роль непрямому действию радиации, подчеркивая важное значение первично возникающих перекисей, действующих на жизненно важный ген.

По мнению автора, изменение гена уже ведет к недостаточности фермента, что и приводит к биологическим последствиям (остановка деления). Прогрессивной в этой схеме была попытка учесть роль промежуточно возникающих перекисей, обладающих токсическими свойствами и изменяющих биологические функции гена, а также указание на то, что изменение ферментативной активности имеет значение для конечного биологического эффекта. В предлагаемой схеме игнорируется прямое действие радиации. Изменение ферментативной активности всецело связывается с поражением гена. Основное понятие о поражении жизненно важного гена сближает эту схему с прежними представлениями формальной теории мишени.

Значительным шагом вперед явилась схема, предложенная Греем в 1958 г. на второй австралийской конференции по радио-

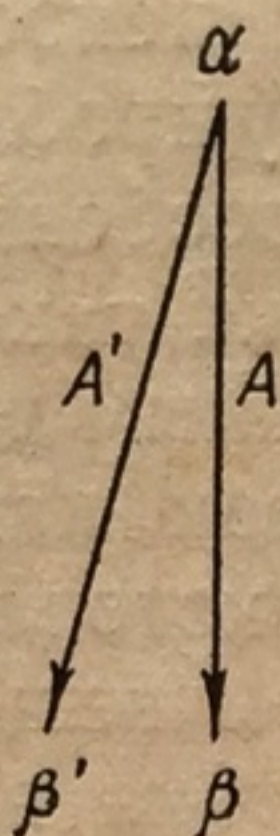


Процессы и состояния, не имеющие существенного значения

Наиболее существенные процессы и состояния

Передача энергии излучения воде с образованием возбужденных молекул, а также другим веществам (кроме воды) при любом способе передачи энергии

Наличие возбужденных молекул воды, а также других возбужденных и ионизированных молекул



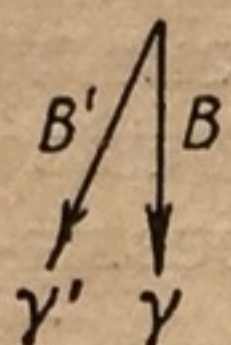
Нормальное состояние клетки

Передача энергии излучения молекулам воды с образованием ионов

Наличие образованных из воды ионов и их диффузия

Образование атомов H

Наличие атомов H



Образование радикалов OH

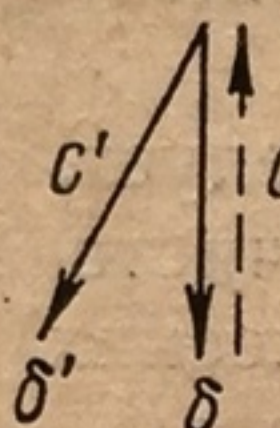
Наличие радикалов OH и их диффузия

Реакции радикалов OH с молекулами, не приводящие к образованию перекисей (конкуренция за радикалы OH)

Наличие побочных веществ

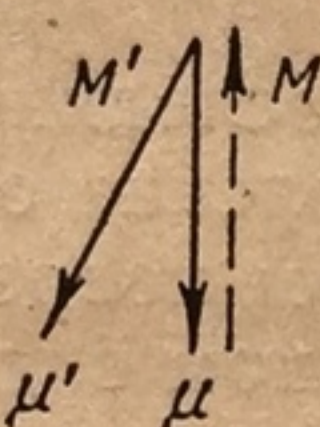
Реакция перекиси с молекулами вне жизненно важного гена (генов) (конкуренция за перекись)

Наличие новых побочных продуктов



Реакции радикалов OH с молекулами, приводящие к образованию перекисей

Наличие молекул перекисей и их диффузия

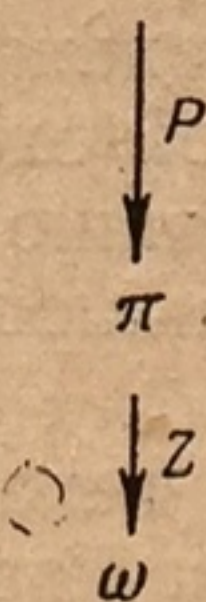


Реакция молекулы (молекул) перекиси с жизненно важным геном (решающий процесс) (Этот процесс должен повториться  $n$  раз, чтобы стать решающим событием) ( $n \geq 1$ )

Наличие инактивированного гена (решающее событие) (критическое число  $n$  таких событий характеризует решающее состояние) ( $n \geq 1$ )

Гены утрачивают способность катализировать образование ферментов

Наличие ферментативной недостаточности



Невозможность осуществления митозов

Клетка не делится. Конечный эффект

Рис. 118. Схема механизма радиобиологического повреждения клетки (по Циркю, 1952)

биологии (Мельбурн, 15—18 декабря 1958 г. [9]), представленная на рис. 119.

Автор предполагает следующие основные этапы развития процессов в пораженной клетке: первый этап, идущий на молекулярном уровне и ведущий к образованию активных неорганических и органических радикалов. Второй этап — поражение биологических структур клетки, особенно существенных, по мысли автора, для генетических повреждений. Третий этап, завися-



ший от второго,— нарушение процессов обмена, обуславливающих морфологические изменения, приводящие к конечному результату: стерилизации, смерти или дифференциации клетки.

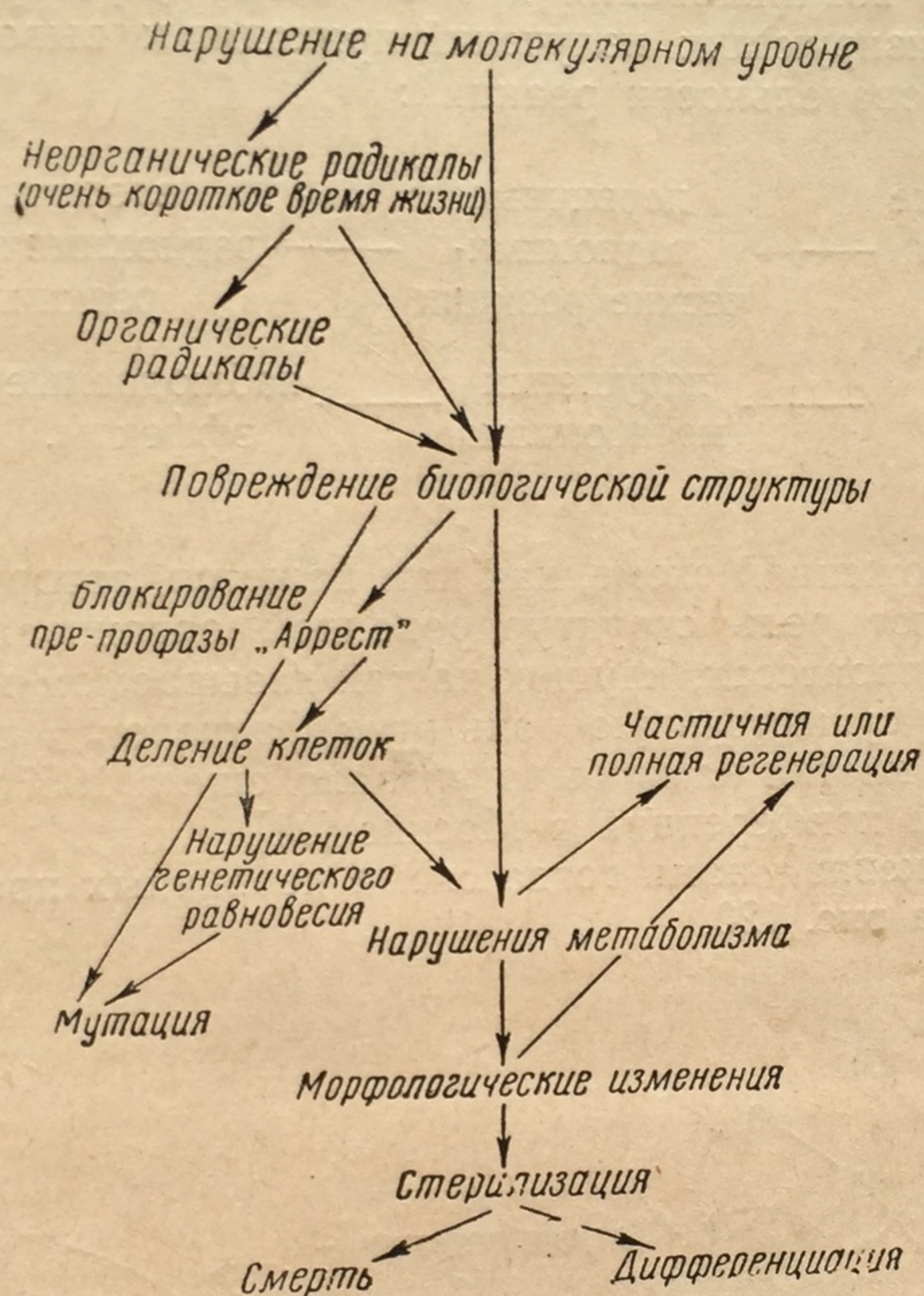


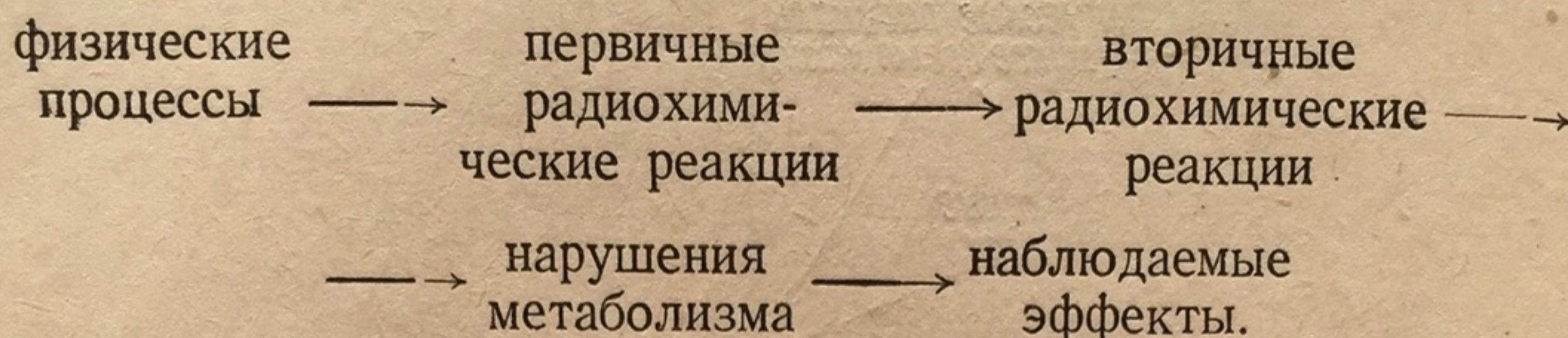
Рис. 119. Схема нарушений на молекулярном уровне (по Грею, 1958)

Новым в этой схеме является признание исключительной роли нарушения обменных процессов для необратимых изменений, происходящих в клетке, что правильно отражает многочисленные факты, полученные к этому времени радиационной биохимией.

Ценной является и подчеркнутая в схеме непосредственная связь нарушений обменных процессов с изменением биологических структур клетки. Однако и эта схема имеет ряд недостатков. Вряд ли на сегодняшний день можно считать, что генетические повреждения не зависят от измененных обменных процессов. Об этом свидетельствует и ряд исследований о восстановлении генетических повреждений и о влиянии метаболитов на митозы.



Идеи о существенной роли нарушения обмена веществ в генетических повреждениях клетки были наиболее отчетливо высказаны Свенсоном и Килман [10], которые при рассмотрении механизмов возникновения хромосомных перестроек под действием ионизирующих излучений приходят к выводу о следующей последовательности реакций:



В предложенной схеме, как нам кажется, авторы недостаточно учитывают роль структурированной организации клетки в начальных процессах, идущих на так называемом молекулярном уровне. На существенную роль этих факторов в радиационном поражении клетки нами было указано еще в 1957 г. на научно-технической конференции в Москве [11].

Предложенная нами тогда схема первичных процессов представлена на рис. 120.

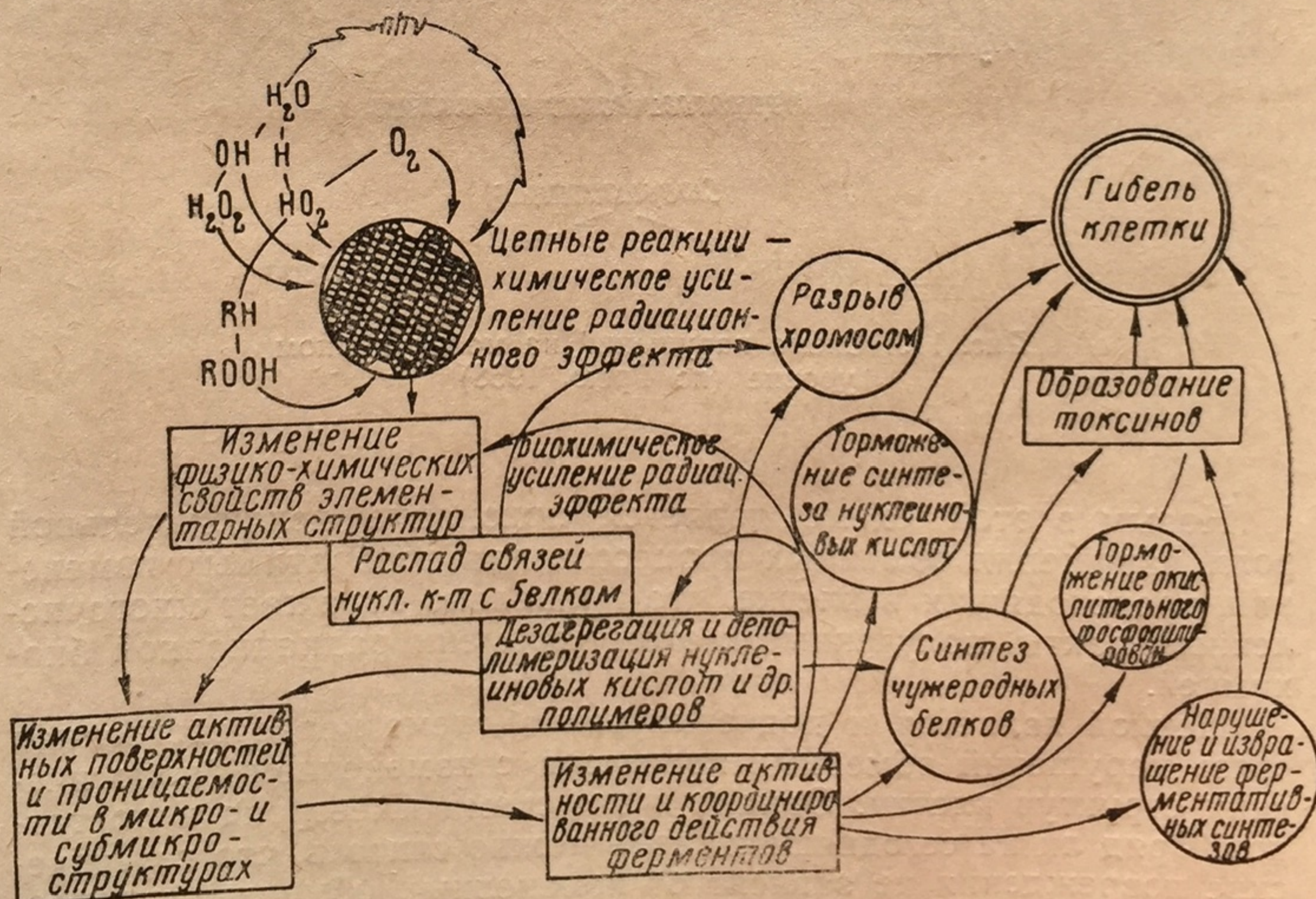


Рис. 120. Схема первичных процессов при лучевом поражении (по Кузину, 1957)



ставлена на рис. 120.

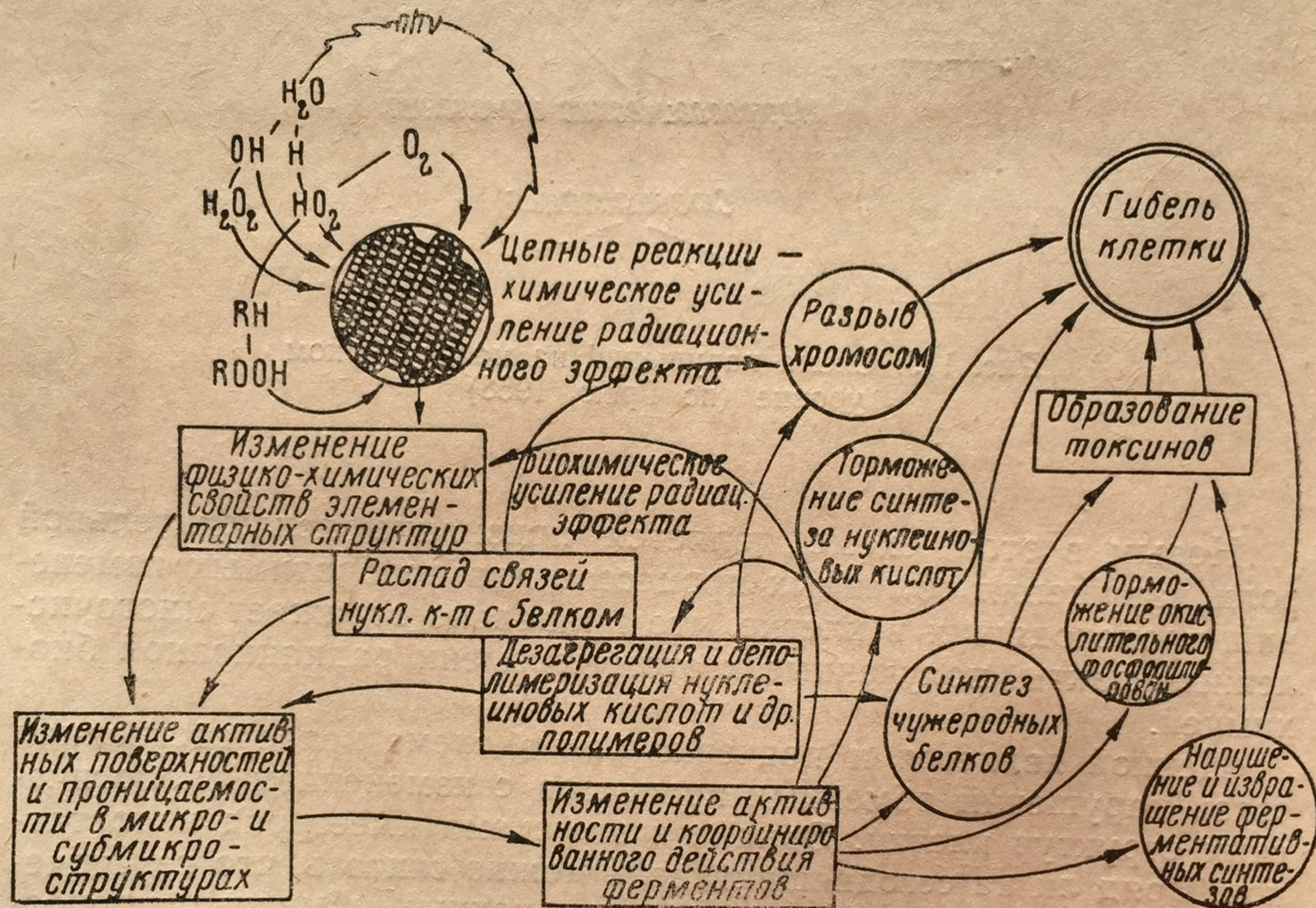


Рис. 120. Схема первичных процессов при лучевом поражении (по Кузину, 1957)



В этой схеме впервые были выдвинуты следующие принципиально новые положения.

1. Так как характерной особенностью клетки является наличие структурно-упорядоченного множества макромолекул (элементарные структуры), то необходимо учитывать действие радиации не столько на разрозненные молекулы, сколько на эти структуры. Уже на первом этапе (так называемом молекулярном уровне) при поглощении энергии надмолекулярными структурами появляются новые особенности, не имеющие места в растворе молекул.

2. Имеется три механизма усиления радиационного эффекта: физический, химический и биохимический.

3. Подчеркнута тесная взаимосвязь нарушений физико-химических свойств структуры с изменением активности и координированного действия ферментов, которые обуславливают повреждение обмена веществ.

4. Высказана идея о том, что изменение структур под влиянием облучения ведет к нарушению обмена, что, в свою очередь, может углубить в начале незначительное изменение структуры. Эта обратная связь между структурой и обменом позволяет понять механизм биохимического усиления радиационного эффекта.

В предложенной схеме значительно полнее, чем в других, отражена существенная роль изменения таких процессов, как окислительное фосфорилирование, синтез нуклеиновых кислот, синтез белка, образование токсинов и другие, в гибели клетки.

Недостатки предложенной схемы заключаются в игнорировании механизмов генетического повреждения клетки, в отсутствии указаний на реальное звено видимых морфологических изменений и на обратимость ряда процессов, позволяющих понять механизмы восстановления радиационных поражений под влиянием физических или химических факторов.

Последним обобщением явилась схема процесса радиационного поражения, данная Баком и Александером в 1961 г. в новом издании «Основ радиобиологии» [7], приведенная на рис. 121. В этой схеме авторы правильно подчеркивают равноправность прямого и непрямого действия радиации на клетку, указывают на необходимость биохимических нарушений для возникновения мутаций, и оттеняют возможность восстановительных процессов на разных этапах поражения. Представления об углублении и развитии возникших поражений за счет метаболизма, выдвинутые мною в 1957 г., также нашли отражение в этой схеме. Шкала времени, включенная в схему, правильно ориентирует читателя в длительности отдельных этапов.

В то же время схема не отражает значения повреждения элементарных биологических структур в развитии биохимических сдвигов, на что специально обращено внимание и в моей схеме



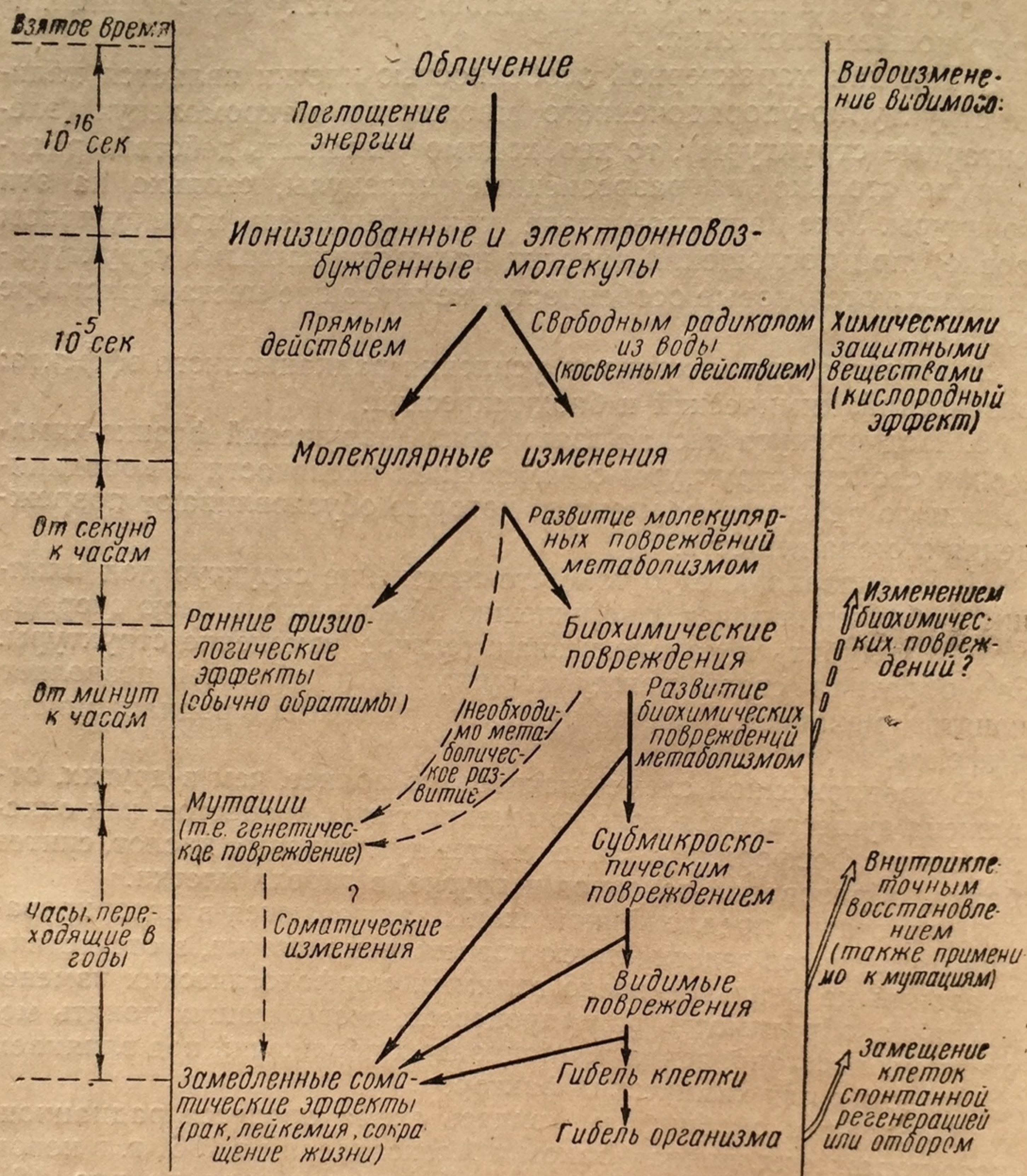


Рис. 121. Схема развития радиационного повреждения организма (по Бак и Александеру, 1961)

1957 г. и в схеме Грея 1958 г. Отсутствие этого звена привело к неправильным представлениям о непосредственной связи ранних обратимых физиологических эффектов с радиационным изменением молекул без участия обменных процессов и повреждения структур. Вряд ли можно согласиться с авторами и в том, что быстро наступающие физиологические изменения (например, изменения проницаемости, электрической активности и другие) даже при их обратимости стоят в стороне и не играют никакой роли в развитии радиационного поражения. Например, наруше-



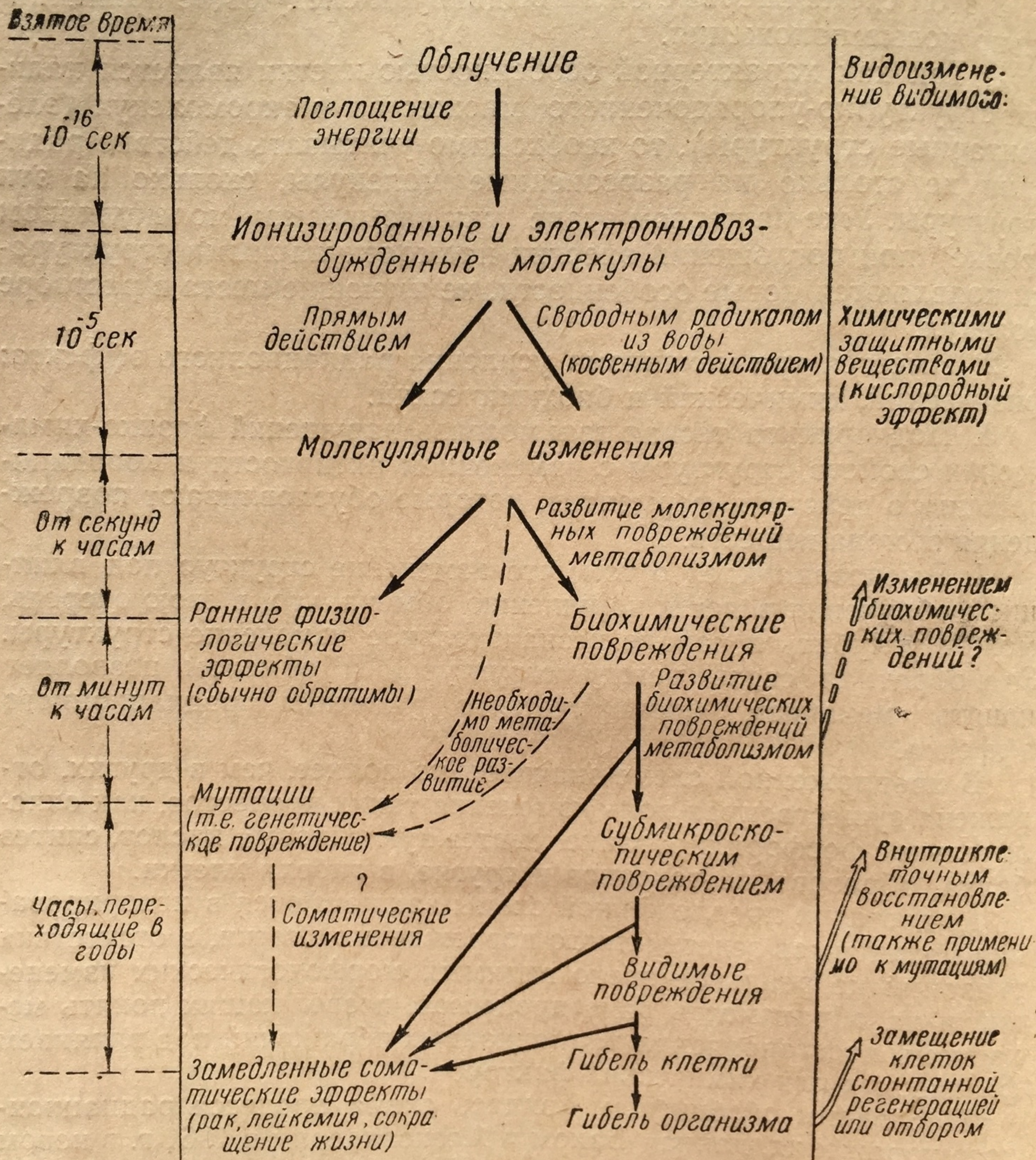


Рис. 121. Схема развития радиационного повреждения организма (по Бак и Александеру, 1961)

1957 г. и в схеме Грея 1958 г. Отсутствие этого звена привело к



ние проницаемости на ранних стадиях может привести к изменению концентрации ионов в отдельных участках клетки, что послужит толчком к изменению обменных процессов. Если час-два спустя проницаемость и восстановится, то вызванный ее изменением обменный процесс может привести через ряд ступеней к серьезным последствиям, учитываемым как конечный радиационный эффект.

Из приведенного краткого обзора существующих представлений о последовательности реакций в облученной клетке мы видим, что предложенные схемы далеко не полны, так как не учитывают многих новых экспериментальных данных.

Вот почему нам кажется целесообразным еще раз проанализировать важнейшие известные нам факты и попытаться на их основе представить хотя бы схематически картину развития радиационного поражения клетки. Хорошо известно, что различные клетки животного и растительного происхождения значительно отличаются друг от друга как по своему строению, так и особенностям обмена и функциям. Это, по-видимому, надо специально учитывать при рассмотрении причин различной радиочувствительности клеток. Однако несмотря на эти различия, вызванные дифференциацией, значительно более отчетливо преобладают общие черты, лежащие в основе жизнедеятельности любой клетки, что и обуславливает общую реакцию всех клеток на действие ионизирующей радиации. Для понимания общих закономерностей биологического действия ядерных излучений нас будет интересовать именно эта общность в строении, обмене веществ и функциях. Поэтому, абстрагируясь от деталей, мы рассмотрим события в некоей «средней» клетке.

Примем диаметр такой средней клетки в 10 мк, т. е. 1 миллилитр ткани будет содержать  $10^9$  клеток и масса клетки (ее сырой вес) равна  $10^{-9}$  г.

На основании экспериментальных данных можно считать, что 30% массы клетки падает на ядро с включенным в него ядрышком. Около 30% массы приходится на митохондрии, диаметр которых равен 1—2 мк, а их количество варьирует в пределах 500—2500 шт.; 10—15% массы следует отнести на эндоплазматический ретикулум с расположенными в нем микросомами. Около 4—5%, по-видимому, падает на лизосомы, диаметр которых близок к 0,4 мк [12]. Оставшиеся 20% приходятся на гиалоплазму, не структурированное клеточное содержимое, выделительные вакуоли Гольджи и другие включения.

Многочисленные исследования зависимости действия радиации от дозы облучения приводят к выводу, что в то время как для генетических повреждений имеется линейная зависимость, большинство соматических повреждений не наблюдается ниже определенной дозы облучения и кривые «доза — эффект» имеют S-образный вид. Это значит, что до некоторой минимальной дозы



влияние радиации не проявляется. S-образные кривые были получены для некоторых видов хромосомных aberrаций для летального действия на клетки млекопитающих в тканевых культурах [13], в опытах по выживаемости бактериальных клеток в определенных условиях развития [14] и для большинства соматических эффектов у многоклеточных организмов. Линейная зависимость генетических повреждений от дозы при экстраполяции к нулю приводит к допущению, что достаточно одной ионизации для проявления эффекта. Следует всегда помнить, что этот вывод делается на основе экстраполяции от сравнительно больших доз облучения, при которых изучаемый эффект может быть практически обнаружен. Такая экстраполяция кажется правомерной при исследовании, например, возникновения точечных мутаций, где в отдельных экспериментах исследователи имели дело с дозами порядка нескольких рентген. Однако она часто является неубедительной при анализе, например, линейных кривых выживаемости микроорганизмов, где реально наблюдаемые точки кривой обычно начинаются с десятков тысяч рад и где разброс данных никогда не позволяет с уверенностью экстраполировать кривую к нулевой точке (см. [7]). С другой стороны, хорошо известно, что любой радиационный эффект требует для своего проявления определенного времени, длительность которого опять-таки стоит в зависимости от дозы облучения. События в облученном организме, ткани, клетке будут развиваться различно в зависимости от полученной дозы. Поэтому анализ реакций, происходящих в клетке при ее облучении различными дозами, представляет, как нам кажется, исключительный интерес для понимания механизмов лучевого поражения. Среди разнообразия биологических объектов с весьма различной радиочувствительностью млекопитающие представляют особый интерес хотя бы потому, что они наиболее близки человеку. Для млекопитающих можно принять дозу в 1000 p как среднюю летальную дозу. Какие нарушения обмена можно ожидать в клетках тотально облученного организма при этих дозах? Не вдаваясь в детали ответной реакции различных клеток, находящихся на различных стадиях дифференциации и несущих различные функции в организме, рассмотрим этот вопрос в несколько схематизированном виде для описанной выше «средней» клетки. Элементарный расчет показывает, что при этой дозе облучения в клетке произойдет образование около 3 000 000 ионизированных и возбужденных молекул. Ввиду того, что содержимое клетки не является гомогенным раствором, было бы неправильно думать, что основное количество энергии будет поглощено водой (около 70%, согласно содержанию воды в клетке) и только меньшее (около 30%) растворенными молекулами. Основной особенностью живой клетки является структурированность вещества и непосредственное участие воды в образовании и построении этих структур



ода в

ствен-  
лы, а  
эчные  
ивных  
ивных  
летке,  
около  
будет  
(если  
остав-  
будет  
икнет  
расче-  
ужде-  
летки,

леточ-

икро-  
ьтра-  
1 изо-  
бокие

летки  
ослой-  
очных

клет-  
копии  
ти ве-  
м для  
схеме

ктуру.  
моле-  
(око-  
и ли-  
). Вся  
у эти-  
эхонд-  
ить во  
ащен-  
о гид-  
часть  
струк-





Рис. 122. Электронномикроскопический снимок с ультратонкого среза клетки



влиян  
лучени  
тально  
турах  
опреде  
тически  
зависи  
ции к  
зации  
вывод  
ших д  
практи  
мерно  
мутац  
дело с  
ляется  
выжи  
ки кри  
брос  
ровати  
шо из  
прояв.  
опять-  
облуч  
в зави  
проис  
предс  
поним  
биоло  
ность  
потом  
можно  
кие на  
ченно  
ной  
стадия  
низме,  
виде д  
чет по  
образ  
молек  
генны  
колич  
но сод  
раств  
ки яв  
ное у

ионизирующая вода, гидратна  
молекулах).  
Таким образом, ионизир  
более сложные образ  
структуры. В структуре яд  
примерно столько  
структурах (если принять  
по-видимому, в кажд  
400 активных центров). В  
образовано 450 000 центро  
диаметр лизосом  
составляют 5% всей массы клет  
порядка 700; это значит,  
около 200 активных центро  
мы показывают, что первич  
молекул возникнут во  
которые поглотят основну  
Какова же будет судьба  
структурах?  
В настоящее время, бла  
мическим исследования  
центрифуг с последующи  
ированных клеточных орг  
ания о структуре клетки  
На рис. 122 представле  
в электронном микроскоп  
ные мембраны, которые с  
органелл.  
На рис. 123 дано схем  
ки, отражающее современ  
[15] и прекрасно иллюстри  
щества в клетке и тесную  
примера хорошо исследов  
она представлена на рис.  
Мы видим характерну  
Она состоит из слоя закон  
тул (50—60 Å толщины),  
до 5% всей РНК клетки,  
лидного слоя, богатого ф  
и многослойная структура  
и структурами находится  
составляет 34% сы  
внимания к белковой попер  
к белковому раствору  
растворенной, то следует  
воды находится в связан  
туру с белково-липидной



(плёночная вода, гидратная вода, структурированная вода в макромолекулах).

Таким образом, ионизирующие частицы будут непосредственно воздействовать не на изолированные случайные молекулы, а на более сложные образования из макромолекул: на клеточные структуры. В структуре ядра возникнет около 900 000 активных центров, примерно столько же образуется в митохондриальных структурах (если принять в среднем 1000 митохондрий в клетке, то, по-видимому, в каждой митохондрии возникнет около 900 активных центров). В эндоплазматическом ретикулуме будет образовано 450 000 центров и около 150 000 в лизосомах (если принять диаметр лизосом в 0,4 мк и допустить, что они составляют 5% всей массы клетки, то их количество в клетке будет порядка 700; это значит, что в каждой лизосоме возникнет около 200 активных центров). Приведенные элементарные расчеты показывают, что первичные процессы ионизации и возбуждения молекул возникнут во всех биологических структурах клетки, которые поглотят основную часть энергии (около 80%).

Какова же будет судьба активированных молекул в клеточных структурах?

В настоящее время, благодаря блестящим электронно-микроскопическим исследованиям последних лет и применению ультрацентрифуг с последующим биохимическим исследованием изолированных клеточных органелл, мы имеем достаточно глубокие знания о структуре клетки и ее органелл.

На рис. 122 представлен снимок с ультратонкого среза клетки в электронном микроскопе [15]. Хорошо видны те многослойные мембраны, которые столь характерны для всех клеточных органелл.

На рис. 123 дано схематическое изображение строения клетки, отражающее современные данные электронной микроскопии [15] и прекрасно иллюстрирующее факт структурированности вещества в клетке и тесную взаимосвязь ее частей. Рассмотрим для примера хорошо исследованную структуру митохондрий. В схеме она представлена на рис. 124 [16].

Мы видим характерную для клеток многослойную структуру. Она состоит из слоя закономерно расположенных белковых молекул (50—60 Å толщины), содержащих рибонуклеопротеиды (около 5% всей РНК клетки содержится в митохондриях [17]) и липидного слоя, богатого фосфатидами (50—70 Å толщины). Вся многослойная структура имеет толщину 150—160 Å. Между этими структурами находится раствор белка. Сухой вес митохондрий составляет 34% сырого вещества. Однако если принять во внимание большую поверхность трехслойных мембран, обращенных к белковому раствору своей белковой частью — сильно гидратированной, то следует предположить, что значительная часть воды находится в связанном состоянии, образуя единую структуру с белково-липидной мембраной.



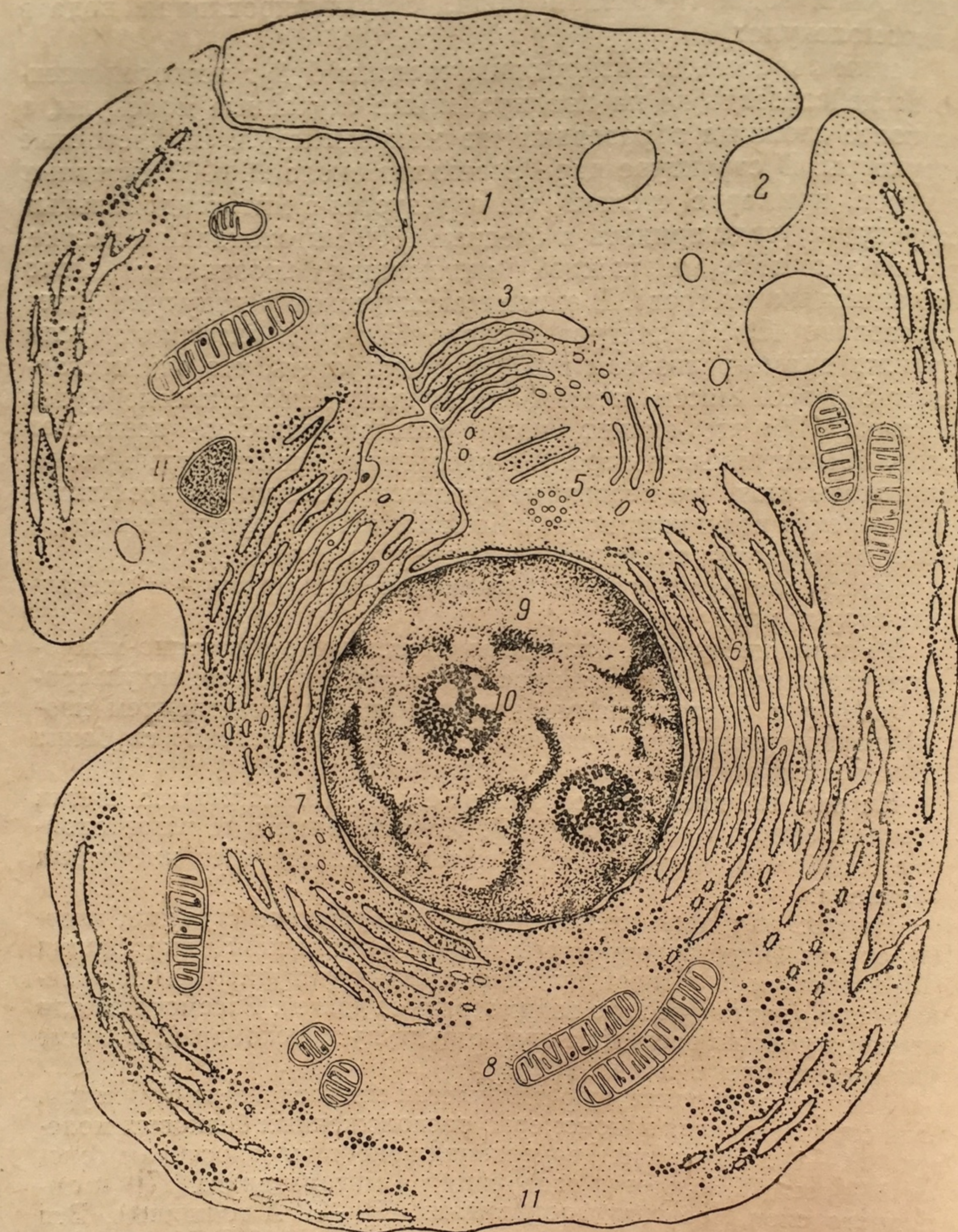


Рис. 123. Схема строения клетки

1 — цитоплазма; 2 — пиноцетическая выемка; 3 — тельца Гольджи; 4 — лизосомы; 5 —  
 центросомы; 6 — эндоплазматический ретикулум; 7 — ядерная мембрана; 8 — митохон-  
 дрия; 9 — ядро; 10 — ядрышко; 11 — клеточная мембрана



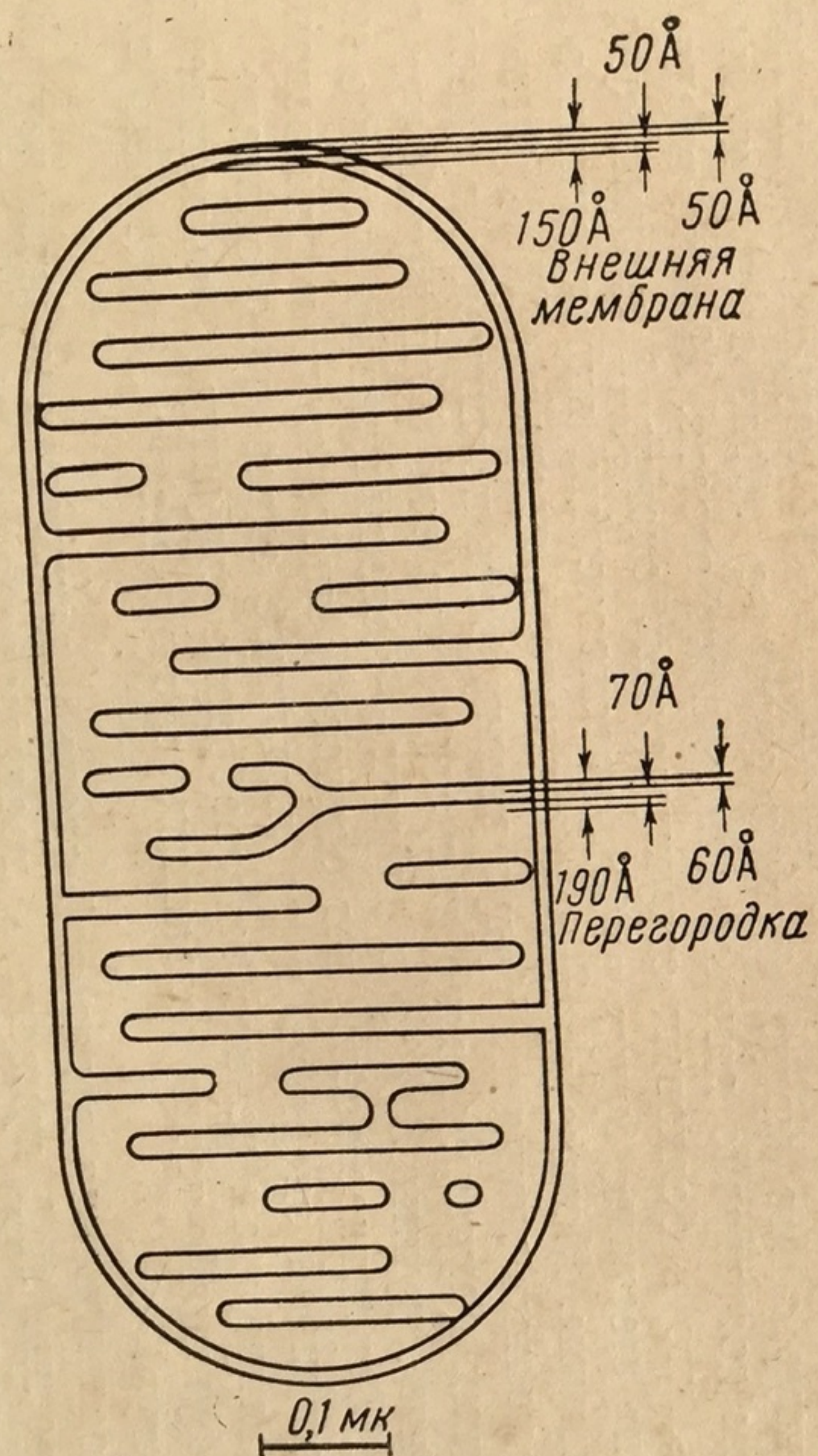


Рис. 124. Схема строения митохондрии (по Грину)



Количество воды, вовлекаемой в эту структуру, увеличивается и благодаря тому, что от 40 до 80% белка внутреннего содержимого митохондрий находится в «связанном» состоянии вместе со своей «гидратной» водой.

Таким образом, около 25% всей воды, входящей в биологические структуры клетки, принимает непосредственное участие в их строении, образуя вместе с белком, липидами и углеводами около 45% всей массы клетки. Это значит, что примерно 45% поглощенной энергии излучения будет активировать непосредственно молекулы в структуре (прямое действие), а 55% пойдет на радиолиз воды и образование активных радикалов гидроксила и водорода с последующими их превращениями (непрямое действие).

Так как расстояния между структурированными мембранами в клетке колеблются от 20 до 400 Å, а пробег радикалов OH, H и HO<sub>2</sub> может быть принят в среднем за 30—60 Å, то естественно допустить, что от 25 до 50% всех образовавшихся в результате радиолиза воды радикалов будут иметь возможность прореагировать с высокополимерными веществами мембран, усиливая эффект, образованный прямым попаданием ионизирующих частиц в вещество мембран. Поглощенная организованной структурой энергия может мигрировать как по белковой молекуле, так и по упорядоченной структуре из этих молекул [18], реализуясь в определенных участках этой структуры [19]. Это значит, что случайные попадания ионизирующих частиц в любую точку биологической структуры могут реализоваться в определенных наиболее «уязвимых» местах этой структуры. В этом заключается первый, физический путь усиления радиационного эффекта, обусловленный особенностями строения биологических структур.

Какие химические группы или вещества могут играть роль этих «уязвимых» мест в биологических структурах? В различных структурах это могут быть различные образования, и мы не имеем достаточно данных для точного ответа. Можно предположить, что в белковых структурах митохондрий такими «уязвимыми» местами будут рибонуклеопротейиды, вкрапленные в эти структуры. Можно предполагать, что в ядерной ДНК, быть может, кольца тимидина будут реализовать поглощенную энергию. В одних случаях можно допустить, что эти функции будут выполнять группы SH, а в других — ненасыщенные жирные кислоты. Вероятнее всего, нет единого общего пути использования поглощенной энергии, и наблюдаемое здесь разнообразие так же велико, как велико многообразие структур и выполняемых ими функций, тесно связанных с химическим строением этих структур.

Исследования в газовой среде и растворах низкомолекулярных соединений привели к представлениям о чрезвычайной неустойчивости ионизированных и электронновозбужденных моле-



кул. Время их существования порядка  $10^{-5}$  сек. Однако исследования, проведенные методом электронного парамагнитного резонанса облученных белков [20—23], показали возможность длительного существования неспаренных электронов в отсутствие воды и кислорода. Наличие

длительной консервации неспаренных электронов в макромолекулах белков-ферментов после их облучения в растворе было продемонстрировано Эйдузом с сотрудниками [24, 25] методом последующей инактивации фермента кислородом, а также методом ЭПР [26]. Исследования Циммера и Эренбергов [27] показали, что возбужденные молекулы в живых структурах (исследовались облученные зародыши семян), обнаруживаемые после облучения методом ЭПР, часами со-

храняются в этих структурах даже в присутствии воздуха и той воды, которая содержалась в этих структурах. Повышение содержания воды несколько ускоряло исчезновение свободных радикалов, но, как видно из данных Эренбергов [28], приведенных на рис. 125, при содержании воды даже в 9,9% сигналы ЭПР обнаруживались спустя часы после облучения.

Таким образом, показанная «консервация» энергии в облученных структурах [18, 29, 30, 31] также будет усиливать радиационный эффект, как бы суммируя результат попадания ионизирующих частиц в различное время облучения. Этот фактор приводит к тому, что в биологической структуре в период облучения (который обычно длится минутами) активные центры будут в какой-то мере накапливаться и к концу облучения в таких структурах, как ядро или митохондрия, могут быть одновременно тысячи и сотни таких радикально активных участков. Рассматривая первую, физическую стадию взаимодействия ионизирующей радиации с биологическими структурами, следует иметь в виду и возникающее в момент облучения изменение электрического заряда на поверхности мембран облучаемых структур. Такое изменение заряда (дзета-потенциала) было хорошо изучено на неорганических коллоидных системах. Еще в старых работах Гроузер и Фаирброзер [32] было показано изменение заряда положительно заряженных коллоидных частиц под влиянием рентгеновых лучей. Снижение положительного заряда вызывало

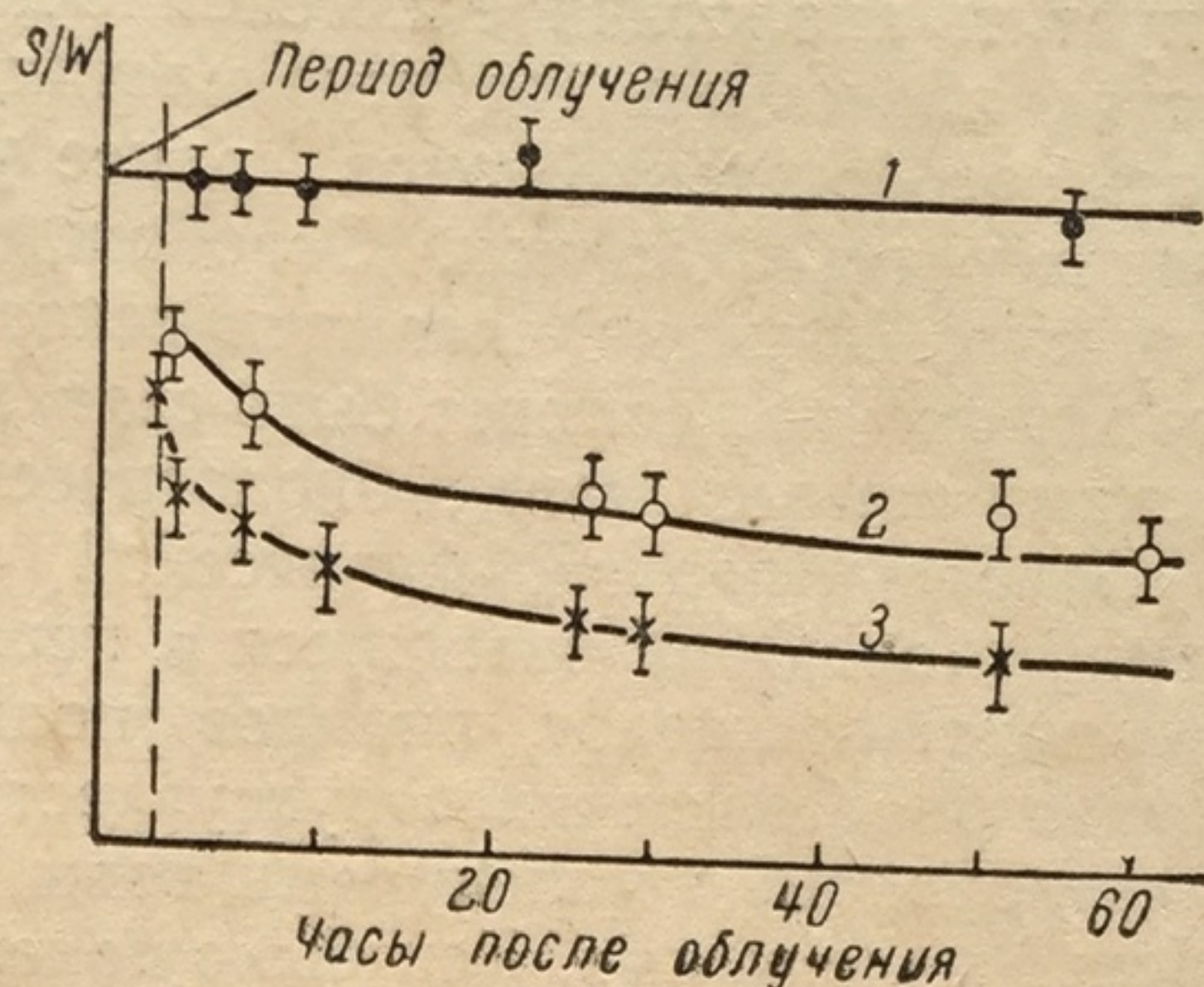


Рис. 125. Зависимость амплитуды сигнала ЭПР облученных семян во времени от содержания воды

1 — 3,1% H<sub>2</sub>O; 2 — 8,5% H<sub>2</sub>O; 3 — 9,9% H<sub>2</sub>O



понижение стойкости коллоида, причем это изменение сохранялось и после окончания облучения. Электрофоретические измерения облученных золь показали изменение дзета-потенциала под влиянием малых доз облучения (10—100 p) [33, 34]. Вероятно допустить аналогичное изменение дзета-потенциала и на поверхностях пленочных структур клетки, что неизбежно должно вызвать освобождение ионов, ранее участвовавших в построении поверхностных пленок. Освобождение ионов Na из ядерных структур, K из эндоплазматического ретикулума и Mg из структур митохондрий может быть связано с этими начальными физическими изменениями в биологических микроструктурах клетки.

Вслед за первой, физической стадией наступает вторая — химическая. Образовавшиеся в первой стадии радикалы белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов и других компонентов биологических структур вступают в химические реакции с кислородом, с молекулами воды, а также с расположенными вблизи молекулами. Как было показано в главе 3, здесь возможно образование перекисей, возникновение коротких цепных реакций окисления, которые усиливают начальный радиационный эффект. Если первоначальное число возникших радикалов на органеллу (например, на митохондрию) исчислялось величиной порядка 900, то быстро протекающие цепные реакции окисления могут привести к появлению многих тысяч измененных молекул, что неизбежно приведет к нарушениям физико-химических и функциональных свойств этих структур. Характер этих первоначальных изменений еще недостаточно ясен. Обнаруженное в нашей лаборатории тотчас после облучения исчезновение эластовязкостных свойств высокополимерной ДНК, изменение изоэлектрических свойств рибонуклеопротеидов, изменение импеданса ткани уже во время облучения [35—37] — все эти факты сигнализируют нам о немедленно наступающем изменении в макромолекулярной организации многослойных мембран ткани.

Образующиеся радикалы белков могут образовать «сшивки» между слоями упорядоченно расположенных белковых молекул, что, как на это указал Пасынский [38], может привести к значительным изменениям в структуре биологических мембран. Все эти изменения происходят тотчас же после облучения в результате чисто физико-химических процессов. Эти начальные изменения незначительны, но поскольку они происходят в активно метаболизирующих структурах с весьма тонко отрегулированными взаимоотношениями ряда ферментов, то они отражаются на изменении активности и сопряжении ферментативных процессов. Как было показано Таппель [39], образование перекисей липидов в мембране лизосом приводит к активации некоторых ферментов, находящихся в связанном и неактивном состоянии в этих структурах. По Де-Дюву [12] при этом активируются такие ферменты,



как рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза, фосфатаза, катепсины, ряд ферментов, гидролизующих мукополисахариды. Активация всех этих ферментов действительно наблюдается под влиянием облучения, что было подробно рассмотрено ранее.

Даже незначительная активация перечисленных ферментов, их освобождение из связанного состояния приведет к дальнейшему, уже ферментативному распаду высокополимерных структур ДНК, РНК, мукополисахаридов, фосфолипидов, липопротейдов. Начнется распад тех веществ, из которых в основном построены внутренние мембраны клетки, что тем самым углубит начавшуюся дезорганизацию ферментативных процессов в этих системах. Это будет третий, биохимический путь усиления радиационного поражения. Если мы примем, что скорость диффузии белков-ферментов примерно составляет 1 мм в час, то расстояния между органеллами клетки ( $\sim 10$  мк) будут преодолены только за счет диффузии за время, исчисляемое долями минуты. Таким образом, ферменты, освобождаемые в лизосомах, митохондриях или иных частях эндоплазматического ретикулума, за весьма короткий срок могут достигнуть любой точки клетки и проявить там свое действие. Наблюдаемая ферментативная деполимеризация ДНК в ядрах клетки в первые часы после облучения может быть легко понята допущением активации ДНК-аз в митохондриях или лизосомах.

Изменения устойчивости липопротейдных структур, распределения ионов и активности ряда ферментов после облучения, по Демину (40), возможно, связаны в частности и с изменениями содержания ацетилхолина, очень ранние радиационные сдвиги метаболизма которого были изучены Деминым и его сотрудниками (40—43).

Представление о роли нарушения проницаемости «мембран» было впервые высказано Сперроу в 1951 г. [44] и более подробно развито Баком и Херве в 1952 г. [45]. В 1955 г. мною было указано [46], что представления Опарина [47] о тесной связи активности гидролитических ферментов с изменением их сорбируемости на внутриклеточных поверхностях могут быть приложены к процессам, идущим в облученной клетке. Нам казалось, что изменение сорбционных свойств внутренних поверхностей клетки может привести к частичной десорбции ферментов, нарушению их упорядоченного расположения в органеллах клетки, что приведет к изменению сопряженных ферментных реакций в клеточных органеллах. Это снижение сорбционных свойств клеточных поверхностей было продемонстрировано нами совместно с Иваницкой, Шабашом и Мамулеш [48, 49] в модельных экспериментах по сорбции радиоактивных коллоидов. Бак и Александер в 1954 г. в первом издании «Основ радиобиологии» подчеркивают, что увеличение активности ряда ферментов является одним из наиболее ранних биохимических изменений, наблюда-



емых в облученных клетках. В 1957 г. представление о роли активации ферментов в развитии радиационного поражения клетки было сформулировано мною следующим образом:

«Однако начавшееся в клеточных структурах под влиянием радиации физико-химическое изменение макромолекулярных веществ тотчас же вызовет изменение проницаемости, сорбируемости ферментов, благодаря чему начавшееся изменение активных поверхностей в микроструктурах будет усилено ферментативными процессами» [50].

Эти идеи о важности нарушения координированного действия ферментов под влиянием радиации были изложены нами и в 1958 г. в Женеве, в нашем, совместном с Шабашом, докладе [51].

Представления о значении изменения проницаемости внутренних мембран клетки под влиянием радиации для создания условий взаимодействия фермента с субстратом были теоретически обоснованы Пасынским и продемонстрированы им в модельных экспериментах, где субстрат был отделен от фермента тонкой пленкой из нуклеиновых кислот [38, 52, 53].

Гипотеза о роли освобождения ферментов (the enzyme realise hypothesis) в радиационном поражении была отчетливо сформулирована и развита Бак и Александер в последнем издании «Основ радиобиологии» в 1961 г. [7]. Авторы подчеркивают принципиальное отличие этой теории от формальной теории мишеней, развиваемой Ли. Согласно Ли, критическая ионизация происходит в том месте, где затем проявляется видимый биологический эффект (например, разрыв хромосомы). Гипотеза освобождения ферментов допускает, что первоначальное изменение внутриклеточных барьеров может произойти в одних структурах, а видимый биологический эффект, вызванный освобожденным ферментом, может развиваться в другом месте клетки.

Какие же реальные ферментативные процессы действительно нарушаются в облученной клетке на ранних стадиях радиационного поражения? В настоящее время мы уже располагаем значительным материалом в этом направлении. В зависимости от дозы облучения, типа клеток, их физиологического состояния и окружающих условий будут наблюдаться значительные вариации в наблюдаемом эффекте.

Однако суммируя известные факты для принятой «абстрактной» клетки, следует допустить следующие наиболее общие изменения (подробно рассмотренные в соответствующих главах):

- 1) угнетение окислительного фосфорилирования в митохондриях и ядрах клеток радиочувствительных тканей;
- 2) потеря митохондриями цитохрома *c*. Изменение путей окисления;
- 3) угнетение начала синтеза ДНК в ядрах (образования полифосфорнокислых эфиров тимидина, угнетение активности полимераз);



4) изменение качества синтезируемой ДНК (нарушение соотношения оснований) и белка (изменение антигенной специфичности);

5) ферментативная деполимеризация ДНК;

6) ферментативный распад белковых структур;

7) ферментативный распад мукополисахаридов.

Все перечисленные процессы, так же, как и многие другие, имеющие специализированное значение для тех или иных клеток, приводят к образованию в клетке аномальных метаболитов (перекисей, хинонов, аномальных пептидов и т. п.) с токсическими свойствами, блокирующие отдельные реакции и углубляющие начавшееся в клетке нарушение обмена веществ.

Конечный биологический эффект радиационного поражения (последняя стадия), выражаемый в видимых морфологических изменениях, остановке деления, возникновении мутаций, образовании гигантских клеток или гибели клетки, является следствием предыдущих процессов.

Хорошо известно, что конечный биологический эффект облучения сильно варьирует для различных клеток в зависимости от условий существования клетки и облучения.

В некоторых клетках при достаточно больших дозах облучения происходит значительное увеличение активности гидролитических ферментов. Освобождаясь в лизосомах, они быстро достигают ядра клетки. Ядро, также получившее большое количество повреждений (нарушена проницаемость оболочки ядра, частично распались нуклеопротейиды и свободная ДНК как бы готова для воздействия ДНК-аз), не в силах сопротивляться воздействию проникающих в него ДНК-аз, РНК-аз и катепсинов. Распаду высокомолекулярных компонентов ядра способствует и то обстоятельство, что синтетические его возможности ослаблены.

Макроэргические вещества, необходимые для синтеза и образующиеся обычно при окислительном фосфорилировании, благодаря подавлению последнего производятся в недостаточном количестве. Все это приводит к глубокой деполимеризации ДНК в ядре, гидролитическому распаду белка, составляющему внутреннюю структуру ядра.

Исследования с фазовым контрастом, люминесцентная микроскопия и обычные гистологические методы обнаруживают грубые изменения в структуре ядра, его вакуолизацию, пикноз, фрагментацию. Флюоресцентная микроскопия выявляет появление в цитоплазме денатурированных белков, начинается «расплавление» биологических структур, что приводит в конечном результате к цитолизу.

При меньшем повреждении лизосомной системы (меньшая доза облучения, тип клеток, их физиологическое состояние) происходят менее сильные повреждения клеточной организации.



В ядре наблюдается диспропорция между полностью остановленным синтезом ДНК и продолжающимся синтезом РНК и частично белка. Наблюдается рост ядрышка, интенсификация его окраски, характерной для РНК. ДНК сильно деполимеризована.

Вследствие выделения Na из ядерной оболочки тотчас после облучения затруднен транспорт аминокислот для построения белка.

Поражение белково-липидных мембран митохондрий приводит к нарушению осмотического равновесия, митохондрии набухают, разобщается окислительное фосфорилирование. Часть митохондрий распадается в еще живой функционирующей клетке. Это приводит к угнетению окислительных процессов. Страдает анаэробный гликолиз, который затормаживается на стадии образования фруктозо-дифосфата и фосфата диоксиацетона. Снижается уровень дифосфопиридиннуклеотида (ДФПН) и АТФ. В некоторых клетках заметно снижается скорость образования лимонной кислоты. Снижение синтеза АТФ приводит к торможению синтеза белков, остановке роста.

При еще меньшей дозе облучения повреждения структур клетки очень незначительны. Митохондрии сохраняют свои основные метаболические функции. В цитоплазме увеличивается концентрация фактора, специфически тормозящего ДНК-полимеразу и тимидинкиназную систему в ядре клетки (природа фактора еще не известна, некоторые наши данные позволяют предполагать участие в этих процессах хинонов, накапливающихся в клетке за счет частично измененных окислительных процессов в митохондриях). Этот фактор, проникая в ядро, тормозит синтез ДНК. При малых дозах процесс обратим и после временной задержки синтез начинается даже с увеличенной скоростью. Однако при этих дозах начинает сказываться измененная под влиянием облучения структура ДНК.

Энергия, поглощенная ядром, мигрируя по нуклеопротеидным цепям, по-видимому, легче всего реализуется в тимидиновых циклах ДНК. Здесь в присутствии кислорода образуется перекись тимина с последующим распадом пиримидинового цикла. Частично угнетена цитоплазматическим фактором тимидинкиназная система, что способствует «ошибкам» при синтезе ДНК в сторону уменьшения содержания тимина. Нарушается упорядоченная упаковка ДНК в двойной спирали, возможно образуются петли (по Доти), что находит отражение и в надмолекулярных структурах ДНК. Синтез ДНК возможен и он идет, но вновь синтезируемая ДНК, имея значительные нарушения в своей структуре, уже не может образовывать нормальные, строго упорядоченные биологические структуры.

Нарушаются ее связи с белком. Не происходит формирования двойных хромосомных нитей. Ядро увеличивается в размере.



Количество ДНК на клетку удваивается, но деления не происходит. Процессы синтеза в цитоплазме идут с малыми нарушениями. Образуется гигантская клетка. Теряется взаимная саморегуляция процессов и клетка гибнет с явлениями жирового перерождения, избыточного накопления стеролов, неиспользуемых нуклеотидов.

Наконец, при еще меньших дозах (мы сознательно не указываем конкретных доз, которые будут сильно варьировать от клетки к клетке) поражения тимидиновых групп в ДНК уже носят не массовый, а скорее единичный характер. Некоторое угнетение тимидинкиназной системы цитоплазмным фактором также вносит «ошибки» в синтезируемую ДНК. Быть может, некоторую роль играет и дезаминирование или блокирование аминных групп аденина, что должно затормозить его «спаривание» с тиминами и привести к замене тимина цитозином в синтезируемой ДНК.

Структура вновь синтезируемой ДНК нарушена только в отдельных звеньях и столь незначительно, что это не оказывает влияния на ее «упаковку» в видимые биологические структуры — хромосомы. Только в отдельных ее звеньях, в силу случайного скопления большего числа радикальных повреждений или случайного более заметного проникновения к ним цитоплазмных факторов (в стадии интерфазы), нарушения в структуре ДНК окажутся столь значительны, что отразятся на ее соединении с белком. В этих случаях биологические структуры будут нарушены и будут наблюдаться разрывы хромосом.

Однако, в целом, рассматриваемый случай характеризуется малыми изменениями в ДНК, происходит процесс деления, образуются дочерние клетки, но они будут иметь ДНК качественно иную, и, в первую очередь, что установлено экспериментально, с измененным содержанием тимина. Подобные повреждения лежат в основе мутационного процесса.

В дочерней клетке «дефектная» ДНК будет обуславливать синтез видоизмененной информационной РНК в ядре, а последняя, поступая в цитоплазму, вызовет синтез «ошибочных» полипептидных цепей. Если эти цепи образуют определенный белок-фермент, то такая ошибка может привести к потере ферментативной активности. Известно, что наиболее распространенным последствием облучения одноклеточных организмов (например, нейроспоры) является появление в их потомстве мутантов, не содержащих того или иного фермента. Если этот фермент катализует реакцию, легко заменимую хотя бы доставкой готового продукта этой реакции, то такой мутант может жить при соответствующих условиях внешней среды.

Если изменения ДНК более значительны и приводят к более серьезному расстройству белкового синтеза, прекращению синтеза многих ферментов или отдельных ферментов, ускоряющих



основные биохимические процессы, то такой мутант не может жить и гибнет (летальные мутации).

Наконец, возможен и третий случай, когда измененная ДНК обуславливает лишь частичную дезорганизацию в активности ферментов и в то же время видоизменяет структуру основных белков цитоплазмы. Начинают образовываться клетки с измененным обменом и синтезируются чужеродные белки. Если эти клетки оказываются более жизнеспособными в многоклеточном организме, то они, выключаясь из системы общей регуляции организма, могут образовать злокачественную опухоль.

В заключение следует еще рассмотреть случай, как правило, с очень малыми дозами облучения, при котором наблюдается лишь временная задержка деления клетки с последующим его восстановлением. Здесь, по-видимому, нарушения в синтезе ДНК уже не играют ведущей роли. На первое место выступают рассмотренные ранее физико-химические процессы: изменение заряда на поверхности полиэлектролитов, перемещение ионов, по-видимому, в первую очередь кальция и магния между отдельными частями клетки, временное изменение проницаемости ядерной оболочки, освобождение гепариноподобных веществ и другие, т. е. процессы, задерживающие пусковые механизмы начала деления. Обратимость этих процессов и является причиной кратковременности наблюдаемой задержки деления.

Из всего сказанного следует, что при поражении достаточно большими дозами радиации в различных структурах клетки возникает множество нарушений нормального обмена. Правомерно ли ставить вопрос, какое из этих нарушений будет ведущим, определяющим конечный радиационный эффект? Нам кажется, в такой общей форме этот вопрос неправилен, так как он игнорирует взаимосвязанность всех процессов в живой клетке. Такая постановка вопроса исходит из представлений о наличии в клетке ведущих структур (например, ядра клетки), влияющих на все остальные, при этом не принимается во внимание, что эти, якобы ведущие структуры, не могут существовать и функционировать без обратного влияния на них всех остальных образований клетки. Однако можно говорить о ведущих нарушениях, имея в виду поражение определенных жизненных функций клетки. Например, как это было разобрано выше, для генетических повреждений, по-видимому, ведущим процессом будет воздействие ионизирующих излучений на ДНК и белок ядра, приводящее к хромосомным поломкам и точечным мутациям. Однако и здесь следует помнить, что для реализации первично возникающих повреждений ДНК далеко не безразлично, как идут и насколько изменены радиацией обменные процессы в цитоплазме, и отсутствие соответствующих цитоплазматических повреждений может быть причиной того, что один «ведущий процесс» не приведет к видимому биологическому эффекту. С другой стороны, массовый лизис



клеток в облученных радиочувствительных тканях может иметь своим «ведущим процессом» поражение лизосом, и наблюдаемые морфологические изменения ядра, вероятно, являются в этом случае вторичными явлениями, зависящими от действия ДНК-аз и катепсинов лизосом. Конечно, и в этом случае не безразлично, облучалось ядро или нет. Одновременное облучение ядра, изменяющее его проницаемость, нарушающее состояние связей между ДНК и белком, будет способствовать лизису его структур под влиянием атакующих ферментов. Вот почему требовались различные дозы облучения в экспериментах с пересадками ядер из облученной и в облученную цитоплазму клеток. При исследовании нарушения дыхания клеток под влиянием облучения «ведущими процессами» могут оказаться процессы, разыгрывающиеся в митохондриальных структурах. Все сказанное еще раз подчеркивает всю неправильность представлений о наличии какого-то единого универсального ведущего процесса при радиационном поражении клетки.

Основные этапы радиационного повреждения клетки с учетом нарушения биохимических процессов обмена схематически представлены на рис. 126.

Любая интерпретация лучевого поражения клетки должна дать ответ на следующие основные вопросы радиобиологии:

1. Как высокая радиочувствительность живой клетки обусловлена особенностями ее строения и обмена?

2. Почему ничтожно малое поглощение энергии ионизирующей радиации приводит к столь сильным биологическим последствиям, как гибель клетки или поражение тех или иных ее функций?

3. Почему радиочувствительность клетки может меняться в десятки и сотни раз в зависимости от физиологического состояния и вида клетки?

4. На чем основаны процессы восстановления функций клетки после облучения в естественных условиях и под влиянием дополнительных воздействий?

Развитые выше представления, как нам кажется, дают ясный ответ на первые два вопроса. Большая радиочувствительность живых систем заключается в том, что они могут существовать лишь при наличии тонкой структурной организации вещества, определяющей постоянно идущий обмен, в свою очередь поддерживающий структурную организацию. Разобранные выше механизмы физического, химического и биохимического усиления радиационного эффекта позволяют понять, почему ничтожно малые количества поглощенной энергии приводят к серьезным биологическим последствиям вплоть до смерти клетки и всего организма.

Развитые выше представления если и не объясняют полностью в силу неполноты наших современных знаний), то все же дают



ключ к пониманию и весьма различной радиочувствительности различных клеток.

Радиочувствительность клеток может варьировать в зависимости от следующих факторов.

I. На радиочувствительность влияют количества биологических структур, первоначально поражаемых радиацией. Удвоение и учетверение количества ДНК в ядре клетки приводит к увеличению вероятности сохранения хотя бы части неповрежденной ДНК, но ведет также к изменению обмена клетки в целом, что лежит в основе большей радиоустойчивости полиплоидных кле-

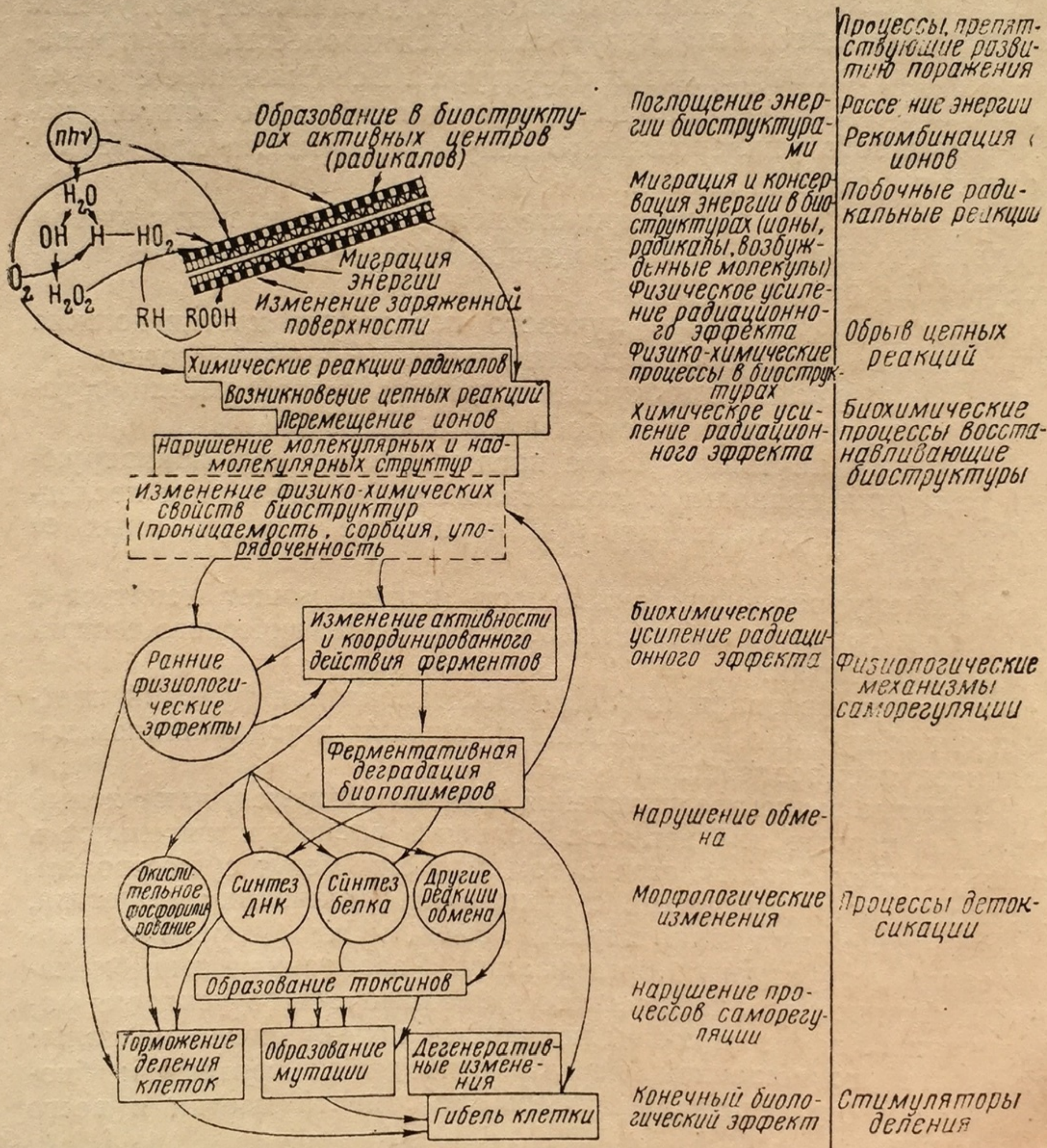


Рис. 126. Схема основных этапов радиационного повреждения клетки



и учетверение количества ДНК, что приводит к увеличению вероятности сохранения хотя бы части неповрежденной ДНК, но ведет также к изменению обмена клетки в целом, что лежит в основе большей радиостойчивости полиплоидных кле-

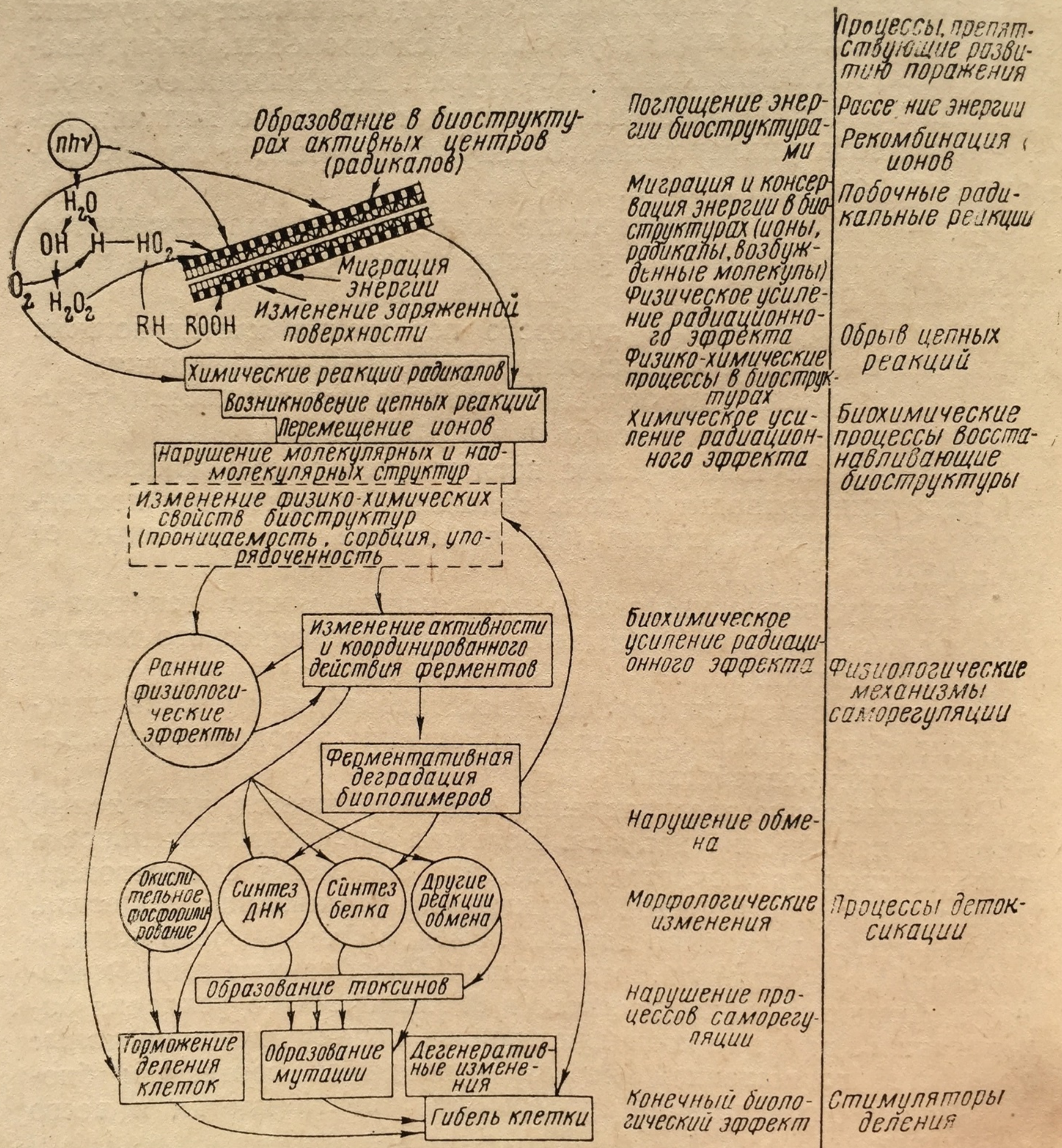


Рис. 126. Схема основных этапов радиационного повреждения клетки



ток по сравнению с гаплоидами. Резкое уменьшение количества митохондрий в клетках также ведет к большему удельному весу поражения каждой митохондрии, что в ряде случаев может влиять на радиочувствительность клетки. Наконец, количественное содержание лизосом — этих хранилищ неактивных гидролитических ферментов, — по-видимому, также существенно для того или иного исхода поражения клетки, хотя фактических данных по этому вопросу еще и недостаточно.

II. Радиочувствительность будет зависеть от характера обменных процессов, определяемых возрастом клетки.

Имеется много данных о большей радиочувствительности молодых, активно метаболизирующих тканей. Клетки таких тканей будут характеризоваться интенсивными процессами окислительного фосфорилирования, синтеза ДНК и синтеза белков. Угнетение ионизирующей радиацией этих процессов приведет к накоплению неиспользованных на синтез предшественников, которые превращаются в аномальные метаболиты, токсические для клетки, вызывающие нарушение процессов саморегуляции и гибель клетки. В стационарном, взрослом состоянии клетки наиболее устойчивы. Старые клетки, более близкие к естественному лизису, будут, по-видимому, снова менее устойчивы к облучению, так как значительно меньшие повреждения обмена уже могут оказаться губительными для такой нестойкой системы. Здесь можно провести аналогию с модельными экспериментами Фриц-Нигли, показавшей, что митохондрии, находящиеся в среде маннита, близкой по составу к среде, вызывающей их лизис, оказываются весьма чувствительны к радиации.

В опытах на мышах было показано, что они наиболее радиочувствительны в молодом возрасте и в период глубокой старости [54].

О зависимости радиочувствительности от интенсивности обмена можно судить, сравнивая радиочувствительность спор микроорганизмов с метаболизирующей культурой — последняя всегда значительно более радиочувствительна [55].

III. Радиочувствительность зависит от стадии митоза. Многие клетки наиболее радиочувствительны в стадии интерфазы, т. е. когда наиболее интенсивно идут процессы синтеза белков, ДНК и РНК. Другие клетки более чувствительны в стадии ранней профазы, когда формируются из макромолекул основные биологические структуры клетки.

IV. Различная радиочувствительность холоднокровных и теплокровных животных также зависит от различной интенсивности обменных реакций.

V. Большая радиоустойчивость многих одноклеточных свободно живущих организмов, по сравнению с клетками тканей высокоорганизованных животных, частично может объясняться легкой удаляемостью аномальных токсических метаболитов, об-



разующихся в облученной клетке. Известно, что перенесение тканевых клеток в условия культуры тканей резко повышает их радиоустойчивость. С другой стороны, в многоклеточном организме возможно влияние не только собственных метаболитов, но и образованных вне клетки и поступающих в нее за счет гуморального обмена.

Как видно из приведенных примеров, концепция, развиваемая в этой книге о ведущем значении в радиационном поражении нарушения обменных процессов, неразрывно связанных с биологическими структурами клетки, позволяет понять те большие различия в радиочувствительности, которые мы реально наблюдаем в природе.

В заключение мне хотелось бы коротко остановиться на возможных механизмах восстановления и защиты при действии ионизирующей радиации. В активно метаболизирующей клетке постоянно идут процессы синтеза, воссоздающие биологические структуры, имеющие, как правило, более короткие сроки жизни, чем клетка в целом.

Саморегуляция обменных процессов в клетке направлена на то, чтобы быстро регулировать содержание того или иного метаболита. Эти процессы, естественно, будут нормализовать нарушенные радиацией обменные процессы, и конечный эффект может всегда рассматриваться лишь как результирующая двух (а быть может и более) противоположно идущих процессов. В настоящее время мы имеем ряд фактов, показывающих, что, варьируя условия существования облученных клеток, можно значительно модифицировать конечный эффект облучения.

Роль обменных процессов в выявлении начально нанесенного радиационного поражения хорошо проявляется в том, что, культивируя облученные клетки в оптимальных условиях для их обмена, мы регистрируем наиболее сильное поражение. С другой стороны, резкое снижение температуры, остановка обменных процессов наркотиками, антибиотиками и другими факторами может задержать проявление радиационного поражения, но при восстановлении оно выявляется с прежней интенсивностью.

Наиболее благоприятные условия для восстановления повреждений создаются помещением клеток в субоптимальные условия обмена, при которых начинают преобладать восстановительные процессы. Это было показано на клетках *E. coli* [14, 56, 57], парameциях [58] и др. Многие известные факты снижения радиационного эффекта при фракционировании дозы могут быть объяснены биохимическими процессами восстановления, так как эффект зависел от температуры в интервалы между облучением [59, 60]. По другим наблюдениям, усиление аэробного гликолиза способствует восстановительным процессам после облучения. С другой стороны, торможение окислительных процессов цианидами, по-видимому, ингибирует восстановительные процессы, что







путем искусственного воздействия химических и биологически-препаратами в настоящее время хорошо разработаны и освещены в ряде работ [7, 63, 64].

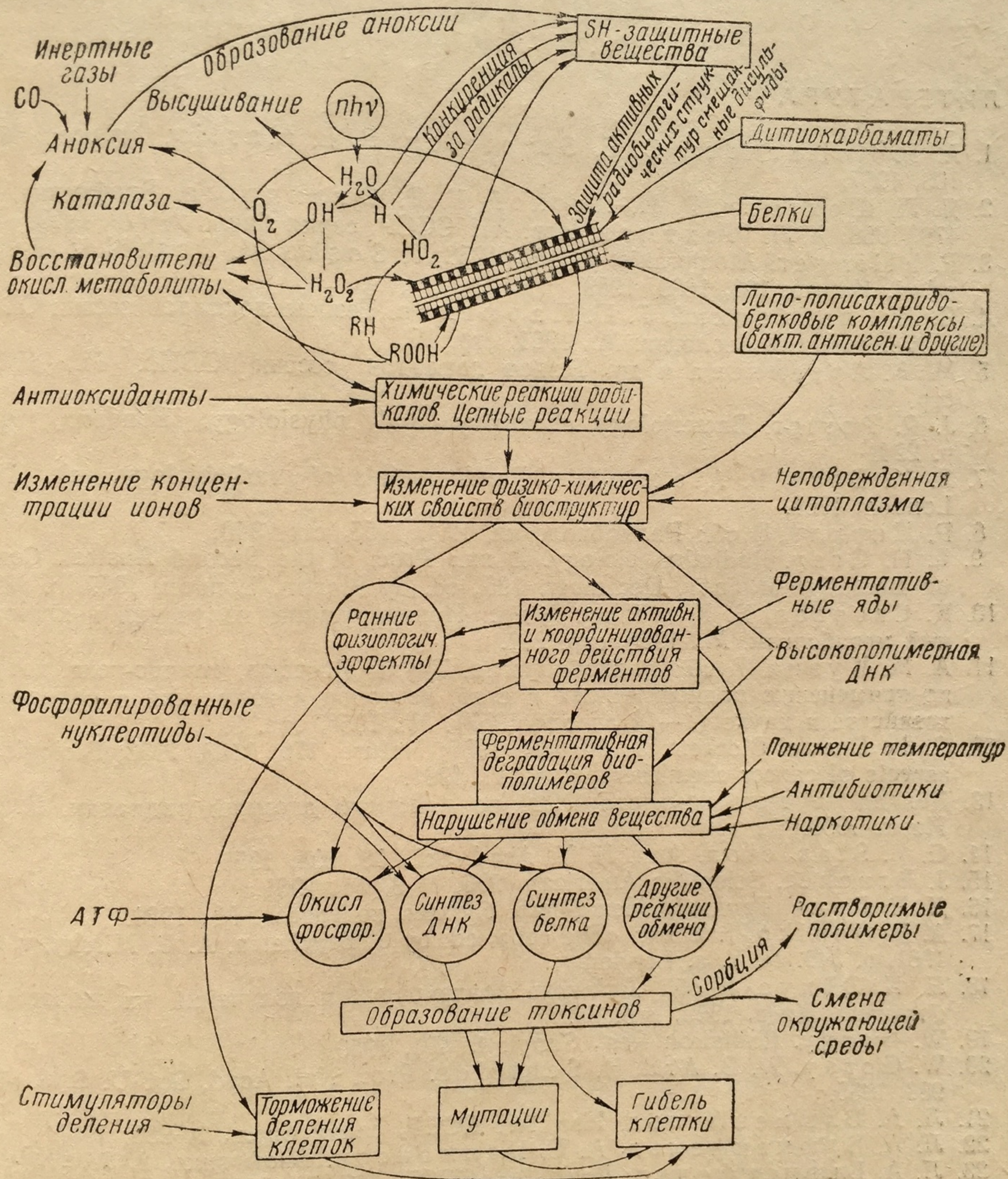


Рис. 127. Схема действия защитных и восстанавливающих веществ



Здесь хотелось лишь рассмотреть основные факты с точки зрения соответствия их той схеме процессов радиационного поражения, которая нами была предложена выше. Действительно, рассматривая известные пути защиты и восстановления, при облучении можно без труда найти вероятные точки их приложения в схеме развития радиационных повреждений. Это представлено на рис. 127.

Нам кажется, что наблюдающееся соответствие еще раз говорит о том, что предлагаемая схема развития радиационных поражений правильно отражает истинные процессы в облученной клетке.

## ЛИТЕРАТУРА

1. A. E. Hollaender, G. E. Stapleton, F. L. Martin. *Nature*, 167, 103, 1957.
2. Я. Л. Шехтман, В. И. Плохой, Г. В. Филиппова. *Биофизика*, 3, 479, 1958; Я. Л. Шехтман. *Изв. АН СССР, серия биол.*, 2, 172, 1959.
3. P. Ellinger. *Atompraxis*, 4, 439, 1958; J. Soska, V. Drasil, Z. Karpfel. *Nature*, 183, 1600, 1959.
4. Я. Л. Глембоцкий, Г. П. Парфенов. Тезисы докладов сессии ОБН по космической биологии. М., 1961, стр. 15.
5. М. А. Арсеньева и др. Тезисы докладов сессии ОБН... М., 1961, стр. 18.
6. J. R. Porter. *Bacteriology, chemistry and physiology*. London, 1947, p. 224.
7. Z. M. Basq, P. Alexander. *Fundamentals of radiobiology*, ch. IV. London, 1961.
8. Р. Циркль. В сб.: *Радиобиология*. ИЛ, 1955, стр. 340.
9. L. H. Gray. *Radiation biology*. В кн.: *Proc. of the Second Austral. Conl. on Radiation Biology*. December, 195, ed. by Martin, London, 1959, p. 282.
10. К. Свенсон, Б. Килман. В кн.: *Ионизирующие излучения и клеточный метаболизм*. М., 1958, стр. 291.
11. А. М. Кузин. В сб.: *Радиобиология*. Труды Всесоюз. научно-техн. конф. по применению радиоактивных и стаб. изотопов и излучений в народном хозяйстве и науке (4—12 апреля 1957). М., 1958, стр. 3.
12. C. de Duve. *Biochem. J.*, 60, 604, 1955; *Nature*, 172, 1143, 1953; *Biological aspects of cancer chemotherapy*. N. Y., 1961.
13. Доклад научного комитета ООН по действию атомной радиации. Нью-Йорк. 1958.
14. G. E. Stapleton. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 59, 604, 1955.
15. J. Brachet. *Scientific American*, 205, N 3, 51, 1961.
16. Д. Е. Грин. Труды V Междунар. биохим. конгресса. М., 1961.
17. A. B. Novikoff. В кн.: *«The cell»*, ed. by J. Brachet a. A. E. Mirsky, v. 2. 1961, p. 349. N. Y. a. London.
18. Л. Х. Эйдуc. В сб.: *Действие ионизирующих излучений на животный организм*. Киев, 1960, стр. 65.
19. W. Gordy. *Radiation Res.*, Suppl. 1, 491, 1959.
20. W. Gordy, W. B. Ard, H. Schields. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* 41, 983, 1955.
21. Л. А. Блюменфельд. *Изв. АН СССР, серия биол.*, 3, 285, 1957.
22. Л. А. Блюменфельд, А. Е. Калмансон. *Биофизика*, 3, 87, 1958.
23. Л. А. Блюменфельд. *Докл. АН СССР*, 117, 72, 1957.



24. Л. Х. Эйдуc, Н. В. Кандакова, Г. К. Отарова. Биофизика, 3, 215, 1958.
25. Л. Х. Эйдуc, Е. Э. Ганасси. Биофизика, 4, 2, 215, 1959; 5, 3, 334, 1960.
26. Л. Х. Эйдуc, Л. П. Каюшин. Докл. АН СССР, 136, 6, 1525, 1960.
27. K. G. Zimmer, L. Ehrenberg, A. Ehrenberg. Strahlentherapie, 103, 3, 1957.
28. A. Ehrenberg, L. Ehrenberg. Ark. fys., 14, 133, 1958.
29. T. Svedberg, S. Brohult. Nature, 143, 938, 1939.
30. R. Setlov. Prog. Phys. a. Biophys. Chem., 5, 72, 1955.
31. Л. Х. Эйдуc. Биофизика, 1, 544, 1956.
32. J. A. Growthcr, L. Fairbrother. Phylor. Mag., 4, 325, 1927.
33. J. A. Growthcr, H. Liebmann, T. B. Lane. Phylor. Mag., 24, 654, 1937.
34. L. H. Gray, J. Read, H. Liebmann. Brit. J. Radiol., 14, 102, 1947.
35. Н. А. Аладжалова. Труды Ин-та биофизики, 1, 16, 1955.
36. Н. А. Аладжалова. Биофизика, 1, 7, 1956.
37. Г. М. Франк. В сб.: Радиобиология. М., 1958, стр. 14.
38. А. Г. Пасынский. В кн.: The initial effects of ionizing radiations no cells, London, 1961, p. 45.
39. A. L. Tappel. Цит. по A. Novikoff. В кн.: «The cell», v. 2, 1961, p. 423.
40. Н. Н. Демин. В сб.: Проблемы эволюции функций и энзимохимии процессов возбуждения. М., Изд-во АН СССР, 1961, стр. 118.
41. Н. В. Корнеева. Радиобиология, 1, 690, 858, 1961.
42. Б. И. Давыдов. Радиобиология, 1, 394, 550, 1961.
43. Н. Н. Демин и Н. В. Корнеева. Радиобиология, 2, 22, 1962.
44. A. H. Spragow. Ann. N. V. Acad. Sci., 51, 1508, 1951.
45. Z. M. Bacq, A. Herve. Bull. Acad. Med. belgique, 18, 6 ser., 13, 1952.
46. А. М. Кузин. В кн.: Сессия АН СССР по мирному использованию атомной энергии. 1—5 июля 1955. М., 1955, стр. 69.
47. А. И. Опарин. Изв. АН СССР, серия биол., № 6, 1733, 1937.
48. А. М. Кузин, Е. А. Иваницкая. Биофизика, 2, 318, 1957.
49. А. М. Кузин, Е. А. Иваницкая, Я. В. Мамуль, А. Л. Шабаш. Биофизика, 3, 320, 1958.
50. А. М. Кузин. В сб.: Радиобиология. Труды Всесоюз. научно-техн. конф. по применению радиоактивных и стаб. изотопов и излучений в народном хозяйстве и науке (4—12 апреля 1957). М., 1958, стр. 3.
51. А. М. Kuzin, A. L. Shabadash. Progress in Nuclear Energy. Ser. 6, Biol. Sciences, v. 2. London, 1959, p. 364.
52. А. Г. Пасынский. Радиобиология, 1, 3, 1961.
53. А. Г. Пасынский. Усп. соврем. биологии, 43, 263, 1957.
54. M. L. Crossfill, P. J. Lindop, J. Rotblat. Nature, 183, 1729, 1959.
55. P. Alexander, C. Dean, S. Jacobs. Цит. по: Bacq a. Alexander [7], p. 302.
56. T. Alper, N. E. Gilles. J. Gen. Microbiol., 18, 661, 1958.
57. A. Hollaender, G. E. Stapleton. Physiol. Rev., 33, 77, 1953.
58. R. E. Kimball, N. Gaither, S. M. Wilson. Radiation Res., 10, 490, 1959.
59. P. Lomarque. Presse méd., 60, 1039, 1952.
60. P. Lomarque, J. Gary Bobo. Первая конференция по мирному использованию атомной энергии. 11, 408, 1956.
61. S. Wollf, H. E. Luippold. Science, 122, 231, 1955.
62. D'Amato, A. Gustaffson. Hereditas, 34, 181, 1948.
63. Сб. Химическая защита организма от ионизирующих излучений, под ред. В. С. Балабуха. М., 1960. Атомиздат.
64. Е. Ф. Романцев. В кн.: Радиобиология, серия «Итоги науки», М. 1, 1957, стр. 100.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**И**сследования в области радиационной биохимии развиваются столь стремительно, что можно быть уверенным в появлении новых данных в самом ближайшем будущем. В настоящей монографии приведены основные исследования 1960 и частично 1961 годов. Используя большой материал литературных данных и своих собственных исследований, автор преследовал одну мысль — показать роль и место нарушений обменных процессов, неразрывно связанных с особым структурированным состоянием вещества в живой клетке, в лучевых повреждениях последней. Автор глубоко убежден, что в этих исследованиях лежит ключ к полному раскрытию взаимосвязанных процессов, возникающих и происходящих в клетке после облучения. Исследование этих процессов все более заменяет старые формальные представления о мишени, ударе, попадании в гипотетические уникальные молекулы и об эффектах по схеме «все или ничего», — реальными сведениями о возникающих физических, химических и биохимических процессах, их масштабах, взаимосвязи, обратимости и проявлении конечного эффекта в зависимости не только от параметров действующего физического фактора, но и от условий внешней среды и физиологического состояния клетки, обуславливающих характер ее обмена веществ.

Приведенные в книге факты и наблюдения достаточно ярко показывают, что только с учетом изменений обмена веществ, неразрывно связанных с изменениями ультраструктур клеточных органелл, могут быть поняты все особенности и закономерности лучевого поражения живой клетки.

Автор уверен, что дальнейшие исследования в этой области дадут новые факты, развивающие и укрепляющие эту основную мысль монографии.

ИМЕННОЙ УКА

Августини Ч.  
Аглинцев К. К.  
Аграчева Н. Д.  
Аладжалова Н.  
[36] 309  
Александров С.  
[29] 279  
Антокольская  
Ариент М. 19  
Арлаченко Н.  
Арсеньева М.  
Артамонова Е.  
[85] 218  
Арутюнова М.  
[56] 280

Бабарин П. М.  
Багдасаров А.  
[30] 217  
Баграмян Э.  
Балабуха В.  
216; 202 [3]  
Барановская  
Баровский И.  
Баррон Г.  
Бах Н. А.  
[15] 39; 34  
Белоусов А.  
Беляева Е.  
Беневольский  
Березина Н.  
252  
Бибергаль  
Блохина В.  
[65] 251  
Блохина В.  
Блюменфельд  
[50] 88; 2  
Борисова  
252  
Бочкарев  
Бояринцев

\* В  
в тексте.



# ИМЕННОЙ УКАЗАТЕЛЬ \*

- Августини Ч. 275 [40] 279  
 Аглинцев К. К. 10 [4] 12; 15 [1] 24  
 Аграчева Н. Д. 162 [18] 196  
 Аладжалова Н. А. 296 [35] 309; 296 [36] 309  
 Александров С. Н. 207 [49] 217; 269 [29] 279  
 Антокольская Ж. А. 209 [64] 218  
 Ариент М. 194 [141] 199  
 Арлащенко Н. И. 232 [81] 235  
 Арсеньева М. А. 282 [5] 308  
 Артамонова В. А. 210 [79] 218; 212 [85] 218  
 Арутюнова М. Б. 138 [36] 155; 276 [56] 280
- Бабарин П. М. 195 [139] 199  
 Багдасаров А. А. 203 [27] 217; 203 [30] 217  
 Баграмян Э. Р. 216 [125] 219  
 Балабуха В. С. 228 [61] 234; 201 [3] 216; 202 [3] 216  
 Барановская И. 171 [54] 197  
 Баровский И. А. 162 [15] 196  
 Баррон Г. 44 [12] 63  
 Бах Н. А. 32 [10] 39; 34 [14] 39; 34 [15] 39; 34 [16] 39; 34 [17] 39  
 Белоусов А. П. 257 [34] 262  
 Беляева Е. М. 195 [142] 199  
 Беневольский В. Н. 275 [52] 280  
 Березина Н. М. 152 [99] 156; 248 [91] 252  
 Бибергаль А. В. 24 [6] 24  
 Блохина В. Д. 242 [62] 251; 243 [63—65] 251  
 Блохина В. П. 47 [28] 63  
 Блюменфельд Л. А. 43 [6, 7] 63; 78 [50] 88; 295 [21] [22] 308; 295 [23] 308  
 Борисова И. Г. 152 [97] 156; 249 [92] 252  
 Бочкарев В. В. 206 [47] 217  
 Бояринцева М. Я. 213 [106] 219
- Бродский В. Я. 194 [134] 199  
 Бронская Л. М. 248 [91] 252  
 Брумберг Е. М. 162 [15] 196  
 Буглов Е. Д. 276 [55] 280  
 Будилова Е. В. 66 [4] 87; 71 [17] 87; 143 [59] 155; 164 [34] 197; 177 [66] 197; 193 [114] 198; 193 [115] 198; 268 [17] 279; 269 [22] 279; 275 [40] 279  
 Бузни Н. А. 237 [7] 250  
 Будницкая Е. В. 152 [97] 156; 249 [92] 252  
 Бюрг К. 236 [1] 250
- Василейский С. С. 195 [142] 199  
 Васильев И. М. 185 [103] 198; 221 [4] 233  
 Варшавский Б. М. 202 [6] 216; 213 [96] 218  
 Веселая П. В. 138 [34] 155  
 Власюк П. А. 227 [51] 234  
 Волкова М. С. 47 [28, 29] 63  
 Воробьев Е. П. 24 [6] 24
- Гальцева Р. Д. 241 [49] 251  
 Ганаси Е. Э. 44 [11] 63; 109 [10] 123; 110 [11—12] 123; 247 [76] 252; 295 [25] 308  
 Гастева С. В. 242 [58] 251; 242 [59] 251  
 Георгиев Г. П. 72 [26] 87; 73 [33] 88; 74 [33] 88; 171 [50] 197  
 Гладышев Б. Н.  
 Глембоцкий Я. Л. 282 [4] 308  
 Голубенцев Д. А. 222 [16] 233; 223 [22] 233  
 Горизонтов П. Д. 213 [105] 218; 277 [69—71] 280  
 Горкина Н. Б. 272 [36] 279; 274 [36] 279  
 Граевская Б. М. 214 [112] 219; 222 [14] 233; 224 [25] 234

\* В квадратных скобках указан номер, под которым автор упоминается в тексте.



- Грин Д. Е. 291 [16] 308  
Гродзенский Д. Э. 216 [125] 219; 240 [42] 251  
Груздев Г. П. 277 [72] 280
- Давыдов Б. И. 237 [22] 251; 297 [42] 309  
Дебов С. С. 211 [83] 218  
Демин Н. Н. 5 [1] 12; 236 [2] 250; 242 [60, 61] 251; 243 [64, 65] 251; 297 [40, 43] 309  
Джоун-Хе 74 [36] 88; 171 [52] 197  
Диковенко Е. А. 178 [75] 197; 193 [129] 199  
Динстбир З. 194 [141] 199  
Довгалева С. Н. 276 [55] 280  
Долин П. Н. 31 [5] 38; 32 [5] 38
- Егизаров Г. М. 102 [16, 17] 106  
Елизарова М. П. 237 [16] 250  
Ермолаева Н. В. 170 [42] 197; 171 [42] 197
- Жуланова З. И. 239 [36] 251; 246 [74] 252; 247 [75] 252  
Журавлев А. П. 36 [32] 39; 247 [76] 252; 101 [11] 106
- Замечник П. 205 [41] 217  
Збарский И. Б. 211 [83] 218  
Зедгенидзе Г. 237 [8] 250  
Зеликина Т. П. 162 [18] 196  
Зильбер А. А. 210 [79] 218; 211 [83] 218  
Зыкова К. П. 212 [89] 218
- Иваненко Т. И. 257 [30] 262  
Иваницкая Е. А. 297 [48] 309; 297 [49] 309  
Иванов И. И. 201 [3] 216; 202 [3] 216; 209 [69] 218; 228 [57] 234; 228 [61] 234; 239 [40] 251  
Ильина Л. И. 208 [61] 218; 209 [62] 218; 211 [62] 218; 210 [78] 218; 211 [82] 218
- Казанцев А. И. 275 [53] 280  
Казарновский И. А. 37 [36] 39; 37 [37] 39  
Каинова А. С. 242 [54] 251; 242 [60] 251  
Какулия М. Е. 188 [109] 198  
Каламкарова М. Б. 43 [4] 63  
Калачева В. Я. 143 [64] 155; 183 [96] 198  
Калмансон А. Э. 43 [6] 63; 43 [7] 63; 78 [50] 88; 78 [51] 88  
Караваев В. Г. 276 [55] 280
- Карпов В. Л. 34 [24] 39  
Каюшин Л. П. 37 [35] 39; 110 [16] 123; 295 [26] 309  
Кейлина Р. Я. 214 [112] 219; 222 [14] 233; 223 [20] 233; 224 [20] 233; 224 [25] 234  
Килман Б. 284 [10] 308  
Киселев П. Н. 94 [12] 97; 95 [17] 97; 231 [73] 235; 231 [76] 235  
Клемпарская Н. Н. 212 [84] 218  
Ключарев Л. А. 258 [45] 263  
Коган Л. С. 95 [17] 97  
Коломийцева И. К. 37 [35] 39; 244 [69] 252; 245 [73] 252; 269 [35] 279; 273 [35] 279; 274 [35] 279  
Колпаков Н. В. 277 [68] 280  
Кондакова Н. В. 44 [10] 63; 44 [11] 63; 109 [9] 123; 295 [24] 309  
Кондратьева Т. М. 162 [15] 196  
Конилова А. С. 206 [47] 217  
Копылов В. А. 152 [98] 156; 194 [132] 199; 230 [71] 235; 269 [35] 279; 272 [36] 279; 273 [35] 279; 274 [35] 279; 274 [36] 279; 274 [39] 279; 275 [40] 279  
Корнеева Е. И. 152 [99] 156  
Корнеева Н. В. 237 [18] 250; 237 [19] 250; 237 [20] 250; 297 [41, 43] 309  
Коровина И. А. 246 [74] 252  
Корогодин В. И. 275 [47] 279  
Кочнева Н. 224 [31] 234  
Коштова Х. С. 58 [46] 64  
Кребс 153 [105] 156  
Критский Г. А. 194 [131] 199; 194 [132] 199; 194 [133] 199  
Кричевская Е. Н. 277 [65] 280  
Крюкова Л. М. 230 [72] 235; 269 [32] 279; 269 [33] 279; 269 [34] 279; 269 [35] 279; 272 [36] 279; 273 [35] 279; 273 [38] 279; 274 [35] 279; 274 [36] 279; 275 [41] 279  
Кудряшов Ю. Б. 275 [51] 280  
Кузин А. М. 8 [2] 12; 34 [11] 39; 37 [35] 39; 46 [25] 63; 66 [4] 87; 71 [17] 87; 72 [27] 87; 72 [28] 88; 79 [27] 88; 138 [36] 155; 142 [57] 155; 143 [59] 155; 152 [98] 156; 163 [20] 196; 171 [54] 197; 223 [21] 234; 248 [88] 252; 248 [90] 252; 248 [91] 252; 245 [73] 252; 256 [26] 262; 269 [22] 279; 269 [32] 279; 273 [35] 279; 273 [38] 279; 274 [35] 279; 274 [36] 279; 274 [39] 279; 275 [40] 279; 275 [41] 279; 276 [56] 280; 286 [11] 308; 297 [46] 309; 297 [48] 309; 297 [49] 309; 298 [50, 51] 309  
Кузнецова Н. Н. 269 [25] 279



Ладыгин Б. Ж. 34 [20] 39  
 Лапинская Е. М. 44 [13] 63; 45 [15] 63; 49 [15] 63; 60 [15] 63  
 Ларин В. А. 34 [17] 39  
 Ларина М. А. 212 [89] 218  
 Ларионов Л. Ф. 160 [1] 196; 160 [2] 196  
 Лауфер А. Л. 94 [15] 97  
 Либинзон Р. Е. 80 [61] 88; 149 [92] 156; 150 [92] 156; 174 [56] 197; 178 [71] 197  
 Лимпан Ф. 205 [42] 217  
 Ломакин М. С. 273 [38] 279  
 Лондон Е. 224 [31] 234  
 Львов К. М. 37 [35] 39

**Малиновский О. В.** 242 [58] 251  
 Мамуль Я. В. 297 [49] 309  
 Манойлов С. Е. 112 [28] 124; 160 [1] 196  
 Мантейфель В. М. 232 [80] 235  
 Маргулис У. Я. 24 [6] 24  
 Маслова А. Ф. 223 [24] 234  
 Мейсель М. Н. 132 [3] 154; 143 [3] 154; 150 [93] 156; 162 [9] 196; 162 [10] 196; 162 [11] 196; 162 [15] 196; 179 [85] 198; 226 [41] 234; 241 [49] 251; 241 [50] 251; 241 [51] 251  
 Мекшенков М. И. 76 [40] 88  
 Минаев П. Ф. 226 [44] 234  
 Мищенко И. П. 60 [51] 64  
 Могилевский М. 94 [15] 97; 95 [17] 97  
 Моисеенко Е. В. 68 [15] 87  
 Монти К. 68 [13] 87  
 Моррисон П. 15 [2] 24  
 Мочалина А. С. 275 [48] 280

**Нам Чан-Син** 34 [20] 39  
 Невлер А. П. 210 [80] 218  
 Нейдинг А. Б. 37 [36] 39; 37 [37] 39  
 Никитин С. А. 237 [7] 250; 237 [10] 250  
 Неменов М. Н. 269 [19] 279  
 Носек Д. 193 [128] 199

**Опарин А. И.** 297 [47] 309  
 Отарова Г. К. 43 [4] 63; 44 [10] 63; 295 [24] 309  
 Охотский А. А. 269 [24] 279

**Павловская Т. Е.** 45 [14] 63; 47 [29] 63; 57 [44] 64  
 Пальмин В. В. 201 [1] 216  
 Паржизек 194 [14] 199  
 Парфенов Г. П. 282 [4] 308  
 Пасынский А. Г. 5 [1] 12; 45 [14] 63; 47 [28] 63; 47 [29] 63; 57 [44] 64; 66 [4] 87; 74 [37] 88; 78 [50] 88; 84 [5] 87; 296 [38] 309; 298 [52] 309

Перлман И. 24 [5] 24; 298 [53] 309; 298 [38] 309  
 Петров Р. В. 209 [62] 218; 211 [62] 218; 210 [78] 218; 211 [82] 218; 212 [84] 218  
 Петрова Н. Д. 210 [70] 218  
 Плохой В. И. 281 [2] 308  
 Плышевская Е. Г. 46 [25] 63; 47 [26] 63  
 Поздняков А. Л. 170 [41] 197  
 Поливода А. И. 275 [49] 280  
 Поликарпова Л. П. 209 [69] 218; 233 [88] 235  
 Пономаренко Н. Е. 239 [33] 251  
 Попов Н. Л. 34 [15] 39  
 Преснов М. А. 140 [45] 155  
 Прокопенко А. Г. 209 [68] 218  
 Прокудина 146 [78] 156; 146 [79] 156

**Рабкина А. Е.** 216 [125] 219  
 Раушенбах М. О. 203 [28] 217; 203 [30] 217; 232 [80] 235  
 Ременникова Е. Л. 211 [81] 218  
 Ривош Ф. Н. 195 [138] 199  
 Риза-Заде Р. Р. 152 [99] 156  
 Родионов В. М. 209 [64] 218  
 Розенфельд Е. Л. 47 [26] 63  
 Ройтман Ф. Н. 194 [133] 199  
 Романцев Е. Ф. 228 [57] 234; 228 [61] 234; 237 [5] 250; 245 [74] 252; 201 [3] 216; 202 [3] 216; 239 [36] 251; 307 [64] 309  
 Ростовцева О. М. 255 [14] 262  
 Рохлина А. 230 [69] 235  
 Рубин Л. В. 34 [17] 39  
 Рыбалка Н. Д. 185 [103] 198; 221 [4] 233  
 Рысина Т. Н. 80 [61] 88; 174 [56] 197  
 Рыскина С. Н. 160 [1] 196

**Савич А. В.** 35 [29] 39; 80 [62] 88; 174 [58] 197  
 Саенко Г. Н. 185 [102] 198; 221 [2] 233; 269 [33] 279  
 Самойлина Н. Л. 203 [30] 217  
 Сараева В. В. 34 [17] 39; 34 [20] 39  
 Сбитнева М. П. 275 [46] 279  
 Свенсон К. 286 [10] 308  
 Селиверстова Л. А. 241 [49] 251  
 Семенов Л. 112 [28] 124  
 Серебренникова А. И. 120 [47] 124  
 Сиборг С. Г. 16 [5] 24  
 Сидякин В. В. 46 [22] 63  
 Силаев М. 223 [21] 234  
 Синовский П. В. 269 [23] 279  
 Сисакян Н. М. 151 [96] 156; 153 [96] 156; 178 [76] 197; 183 [76] 197; 207 [48] 217  
 Словохотова Н. А. 34 [24] 39



Смирнов К. В. 238 [23] 250  
 Смоличев Е. П. 202 [5] 216  
 Снежко А. Д. 210 [79] 218  
 Сондак В. А. 150 [93] 156; 162 [10] 196; 162 [11] 196; 162 [12] 196  
 Сорокин Ж. У. 34 [16] 39  
 Сорокина Е. Л. 160 [1] 196  
 Спитковский Д. М. 71 [24] 87; 167 [37] 197  
 Степанов В. С. 237 [16] 250  
 Стражевская Н. Б. 72 [27] 87; 72 [28] 88; 74 [35] 88; 74 [36] 88; 79 [27] 87; 165 [35] 197; 171 [52] 197; 171 [53] 197; 171 [54] 197; 171 [55] 197; 172 [52] 197; 204 [32] 217; 206 [32] 217; 209 [63] 218  
 Стрелин Г. С. 269 [20, 21] 279  
 Стручков В. А. 72 [27, 28] 88; 74 [33] 88; 73 [33] 88; 73 [34] 88; 74 [35] 88; 74 [36] 88; 79 [27] 87; 165 [35] 197; 167 [39] 197; 171 [52] 197; 171 [53] 197; 171 [54] 197; 171 [55] 197; 172 [52] 197; 269 [35] 279; 273 [35] 279; 274 [35] 279  
 Суетина И. А. 194 [134] 199  
 Сунь Чи 185 [102] 198; 221 [2] 233  
 Тарусов Б. Н. 182 [94] 198; 213 [110] 219; 264 [4] 278; 278 [75] 280; 247 [84—87] 248  
 Ткач В. К. 46 [22] 63  
 Токарская В. И. (Токарская-Меренова В. И.) 174 [59] 197; 184 [99—100] 198; 183 [97—98] 198; 187 [59] 197  
 Токарская З. Б. 213 [109] 219; 214 [111] 219  
 Тонгур В. С. 71 [24] 87; 74 [37] 88  
 Торопова Г. П. 170, 171 [42] 197; 222, 223 [17] 233; 223, 224 [19] 234  
 Третьякова К. А. 240 [42] 251  
 Тринчер К. С. 142 [57] 155  
 Туточкина Л. Г. 209 [69] 218  
 Успенская М. С. 174 [62] 197  
 Фастюченко О. В. 202 [6] 216; 213 [96] 218  
 Федоров Н. А. 195 [136] 199  
 Федорова Т. А. 201, 202 [3] 216; 206 [44, 47] 217  
 Федорова Г. А. 195 [139] 199; 212 [89] 218; 228 [61] 234  
 Федотов В. П. 222 [18] 233

Abrams R. 225 [36] 234  
 Ahlstrom L. 176 [63] 197  
 Akeson A. 258 [46] 263

Филлипова Г. В. 281 [2] 308  
 Фрайман В. Б. 211 [83] 218  
 Франк Г. М. 296 [37] 309; 210 [79] 218

Хейфец Ю. Б. 224 [28] 234  
 Хенох М. А. 44 [13] 63; 45 [15] 63; 49 [30] 63; 82 [66] 88; 89 [2, 3] 97; 93 [7] 97

Ходос В. Н. 277 [68] 280  
 Хомайде Л. Л. 275 [50] 280

Цейтлин П. И. 71 [24] 87  
 Циркль Р. 283 [8] 308  
 Цинь Су-юнь 185 [103] 198; 221 [4] 233

Чейка Л. 193 [128] 199  
 Чержков И. Л. 203 [29, 30] 217; 204 [29] 217  
 Четвериков Д. А. 243 [63] 251  
 Чудиновских А. В. 209 [64] 218

Шабдаш А. Л. 162 [16—20] 196; 163 [20] 196; 224 [27, 28] 234; 248 [89, 90] 252; 297 [49] 309; 298 [51] 309  
 Шальнов М. И. 80 [62] 88; 174 [58] 197

Шатерников В. А. 212 [90—91] 218; 237 [20] 250

Шевалье А. 236 [1] 250  
 Шен-Пей-чэнь 78 [50, 51] 88  
 Шепшелевич Л. Л. 257 [34] 262  
 Шеремет З. И. 203 [30] 217; 232 [80] 235

Шехтман Я. Л. 281 [2] 308  
 Шитикова М. Г. 257 [34] 262  
 Шиходыров В. В. 209 [69] 218; 275 [46] 279  
 Шмидт Н. Н. 269, 276 [26] 279  
 Шраменко Ф. У. 255 [14] 262  
 Шулятикова А. Н. 222 [13] 233

Эйдус Л. Х. 43 [3, 4] 63; 44 [10, 11] 63; 109 [9, 10] 123; 110 [11—13, 16] 123; 204, 206 [32] 217; 294, 295 [18] 308; 295 [24—26] 308; 295 [31] 309

Языкова В. А. 244 [91] 248; 269 [33] 279  
 Яковлева В. Г. 206 [47] 217

Albaum H. G. 133 [17] 154; 238 [26] 251  
 Alderman L. M. 233 [85] 235



- Aldridge W. G. 149 [91] 156  
 Alexander P. 76 [44] 88; 78 [45—48] 88; 110 [17, 18] 123; 119 [17] 123; 122 [53] 124; 163 [22, 23] 196; 171 [46, 47] 197; 191 [120] 199; 264 [5] 278; 266 [5] 278; 282, 287, 290, 298 [7] 308; 305 [55] 309; 307 [7] 308  
 Allen A. O. 28 [9] 30; 32 [7] 38  
 Allen J. G. 232 [82] 235  
 Allfrey V. G. 189 [112] 198; 257 [29] 262  
 Allfry W. G. 192 [125] 199  
 Ally M. S. 213 [94] 218  
 Almeida A. B. 242 [52] 251  
 Alpen E. L. 179 [87] 198; 259 [51] 263  
 Alper K. 132 [7] 154  
 Alper T. 163 [24, 26, 27] 196; 306 [56] 309  
 Altman K. J. 147 [82, 83] 156; 151 [82, 83] 156; 148 [86] 156; 213 [101] 218; 240 [44] 251; 242 [55] 251  
 Ambrose J. 47 [27] 63  
 Andem M. R. 276 [57] 280  
 Ander P. 34 [23] 39  
 Anderegg J. W. 144 [70] 155  
 Anderson D. R. 213 [102] 218; 213 [103] 219  
 Anderson E. P. 179 [86] 198  
 Anderson N. G. 67 [6] 87; 67 [8] 87; 68 [12] 87  
 Anderson R. S. 108 [3] 123; 109 [7] 123; 120 [48] 124  
 Anger R. 202 [11] 216  
 Angenstine L. G. 45 [20] 63  
 Antonijevic M. 214 [114] 219  
 Applegate R. L. 144 [66] 155; 144 [67] 155  
 Appleyard A. 86 [72] 88  
 Ard W. B. 38 [38] 39; 43 [2] 63; 110 [15] 123; 295 [20] 308  
 Armstrong W. D. 255 [18] 262  
 Aronson D. L. 153 [100] 156  
 Ashwell G. 103 [20] 106; 132 [8] 154; 141 [8] 154; 141 [53] 155; 142 [58] 155; 145 [53] 155; 145 [58] 155  
 Astrack A. 99 [5] 106  
 Babicky A. 59 [47] 64  
 Bacq Z. M. 148 [87] 156; 191 [120] 199; 237 [4] 250; 264 [5] 278; 266 [5] 278; 282 [7] 308; 287 [7] 308; 290 [7] 308; 297 [45] 309; 298 [7] 308; 307 [7] 308  
 Balasz 95 [19] 97  
 Baldwin T. 66 [3] 87  
 Bale W. F. 209 [65] 218  
 Ball C. O. 202 [8] 216  
 Ballantine D. S. 34 [23] 39  
 Ballin J. C. 213 [107] 219  
 Barber A. A. 247 [77] 252; 247 [82] 252  
 Barnum C. P. 242 [57] 251  
 Barr N. 99 [4] 106  
 Barron E. S. G. 44 [8] 63; 47 [27] 63; 55 [42] 64; 57 [43] 64; 80 [60] 88; 84 [71] 88; 112 [26] 124; 114 [33] 124; 115 [34] 124; 115 [35] 124; 116 [33] 124; 136 [28] 154; 137 [32] 155; 202 [4] 216; 225 [36] 234  
 Barron G. 174 [57] 197; 227 [50] 234; 227 [46] 234  
 Barron L. S. 210 [73] 218  
 Bassin M. 258 [40] 263  
 Baturay O. 71 [18] 87  
 Batzer O. F. 59 [48] 64  
 Bauer E. 202 [7] 216  
 Baum S. J. 259 [51] 263  
 Belcher E. 258 [37] 263  
 Baxter H. 216 [124] 219  
 Becker R. 99 [4] 106  
 Belcher E. 258 [37] 263  
 Bell V. L. 240 [43] 251  
 Bella D. 100 [9] 106  
 Bellamy W. 66 [3] 87  
 Beltz R. E. 144 [66] 155; 144 [67] 155; 191 [118a] 198  
 Bendich A. 167 [40] 197  
 Bennet L. R. 241 [48] 251  
 Bennet L. 254 [7] 262  
 Bennet V. 254 [7] 262  
 Bennet W. 53 [39] 64  
 Benson B. 230 [64] 235  
 Barenbom M. 174 [60] 197; 183 [60] 197; 183 [95] 198  
 Berger C. M. 202 [18] 216  
 Bernheim M. L. C. 247 [79] 252; 247 [80] 252; 247 [81] 252; 247 [83] 252  
 Bernstein M. H. 67 [7] 87; 68 [7] 87; 68 [10] 87; 161 [3] 196; 161 [4] 196  
 Bethell F. H. 141 [52] 155; 142 [52] 155  
 Bettendorf G. 210 [71] 218  
 Betz E. H. 212 [88] 218; 239 [34] 251  
 Bier M. 107 [2] 123  
 Billows I. 137 [31] 155  
 Binkley W. W. 90 [4] 97  
 Bishop F. C. 238 [30] 251  
 Blankley R. L. 188 [108] 198  
 Blondal H. 233 [86] 235; 233 [87] 235  
 Bloom W. 268 [13] 279  
 Blumental G. 111 [19] 124  
 Boag J. W. 36 [33] 39; 99 [1] 106  
 Boeli E. 227 [48] 234  
 Boll J. L. 101 [12] 106  
 Bolland J. 34 [12] 39  
 Bollum F. S. 144 [65] 155; 144 [66] 155; 144 [67] 155; 144 [70] 155  
 Bonet-Mauri P. 28 [8] 30  
 Bonnichser R. 258 [46] 263; 258 [47] 263; 258 [48] 263  
 Bourne E. J. 94 [8] 97



- Bowen H. J. M. 230 [70] 235  
 Bowers J. Z. 254 [6] 262; 255 [18] 262  
 Boyd M. J. 132 [7] 154  
 Brachet J. 291 [15] 308  
 Brair A. E. 53 [36] 64  
 Brandt C. L. 132 [4] 154; 210 [74] 218  
 Brausch A. 99 [5] 106; 119 [37] 124  
 Brecher G. 257 [36] 263  
 Breitman F. R. 189 [113] 198  
 Brent R. L. 133 [18] 154  
 Breuer H. 254 [5] 262; 255 [5] 262  
 Bridgeforth E. B. 237 [17] 250  
 Brin M. 224 [26] 234  
 Brohult S. 43 [1] 63; 295 [29] 309  
 Brooks R. 95 [18] 97  
 Brown M. D. 264 [2] 278  
 Brownell J. L. 10 [6] 12  
 Bruce A. K. 256 [21] 262; 256 [22] 262;  
 256 [23] 262; 256 [24] 262  
 Brues A. M. 195 [137] 199  
 Bruns F. 213 [101] 218  
 Buchanan D. 237 [17] 250  
 Buddington W. 228 [54] 234  
 Bukantz S. 207 [54] 217  
 Butler C. L. 135 [25] 154; 164 [32] 196  
 Butler G. 66 [2] 87  
 Butler J. A. V. 67 [9] 87; 71 [19] 87;  
 74 [19] 87; 76 [19] 87; 79 [55] 88; 79  
 [56] 88; 83 [70] 88; 82 [67] 88; 164  
 [33] 196; 208 [59] 217  
 Burg C. 34 [13] 39; 36 [34] 39; 99, 102  
 [2] 106; 101 [13] 106; 236 [1] 250; 237  
 [4] 250; 247 [78] 252  
 Burgi E. 73 [31] 88; 171 [49] 197  
 Burger C. L. 68 [11] 87  
 Burger H. 277 [74] 280  
 Burr B. E. 213 [94] 218  
 Burton V. 102 [18] 106; 103 [19] 106  
  
 Callanan M. J. 46 [23] 63  
 Cali A. 231 [79] 235  
 Caputo A. 95 [20] 97; 225 [40] 234  
 Cardella Y. W. 179 [84] 198  
 Carr S. W. 206 [46] 217  
 Carrol W. R. 46 [23] 63  
 Carter Ch. E. 185 [101] 198  
 Carttar M. S. 141 [54] 155; 178 [72]  
 197; 179 [82] 198; 180 [82] 198  
 Casarett G. W. 242 [55] 251  
 Caspari E. 264 [1] 278  
 Casperson T. O. 204 [34] 217  
 Cate D. L. 230 [64] 235  
 Cater D. B. 190 [119] 199  
 Cavalieri L. F. 71 [18] 87  
 Cavalieri R. 258 [39] 263  
 Cawse P. A. 230 [70] 235  
 Chang C. H. 209 [67] 218  
 Channutin A. 258 [42] 263; 258 [43] 263  
  
 Chapiro A. 34 [25] 39  
 Charlesby J. 94 [9] 97  
 Charrier J. 202 [13] 216  
 Chase H. 226 [42] 234  
 Cheener F. S. 275 [45] 279  
 Cherarducci D. 139 [40] 155  
 Chesley L. 227 [49] 234  
 Chevallier A. 34 [13] 39; 36 [34] 39;  
 237 [4] 250; 99, 102 [2] 106; 101 [13]  
 106; 247 [78] 252  
 Chipault J. R. 99 [6] 106; 101, 103 [6]  
 106  
 Chormley J. A. 32 [6] 38  
 Christense-Nickell E. 99, 101, 103 [6]  
 106  
 Christensen N. 254 [6] 262  
 Christian E. J. 195 [137] 199  
 Cinits E. A. 202 [19] 216  
 Clark L. B. 258 [44] 263; 260 [53] 263;  
 261 [53] 263; 260 [44] 263; 261 [44]  
 263  
 Clark L. C. 53 [35] 64; 54 [35] 64  
 Clay P. G. 34 [18] 39  
 Clouet D. H. 202 [8] 216  
 Cobur A. 80 [60] 88  
 Coen A. 9 [3] 12  
 Coheran K. W. 230 [65] 234; 239 [37]  
 251  
 Cohn P. 208 [59] 217  
 Cohn S. H. 134 [21] 154; 134 [22] 154;  
 139 [44] 155; 257 [32] 262  
 Coffey Z. 137 [33] 155  
 Cole L. Y. 68 [14] 87; 161 [5] 196; 161  
 [6] 196; 161 [7] 196; 161 [8] 196  
 Cole S. 53 [39] 64  
 Coleman M. 135 [24] 154  
 Collinson E. 25 [2] 30; 28 [10] 30  
 Commoner W. 110 [14] 123  
 Coniglio Y. G. 230 [64] 235; 237 [3] 250;  
 239 [3] 250; 240 [40] 251  
 Conway B. E. 78 [56] 88; 79 [58] 88;  
 80 [58] 88; 82 [67] 88  
 Cool H. T. 213 [94] 218  
 Coon J. M. 255 [16] 262; 255 [17] 262  
 Cooper E. H. 179 [87] 198  
 Cornatzer W. E. 202 [9] 216; 239 [15]  
 250; 237 [18] 251  
 Coss J. 94 [16] 97  
 Cotziass C. C. 153 [101] 156  
 Coulter E. P. 202 [10] 216  
 Cox R. A. 79 [53] 88  
 Craddock C. G. 207 [51] 217  
 Crathorn A. 208 [59] 217  
 Creasey W. A. 143 [63] 155; 144 [71]  
 155; 192 [124] 199; 256 [27] 262  
 Crick F. C. H. 76 [41] 88  
 Crist K. 203 [22] 216  
 Cronkite E. D. 257 [36] 263  
 Crossfill M. Z. 305 [54] 309



Cullock E. A. 202 [19] 216  
Curran P. E. 253 [1] 262; 255 [1] 262

Daimer J. 9 [3] 12

Dainton F. S. 25 [1] 30; 28 [10] 30

Dale H. 277 [60] 280

Dale W. M. 49 [31] 63; 50 [32] 63; 52 [31] 63; 57 [45] 64; 112 [27] 124; 113 [32] 124; 117 [36] 124; 118 [27] 124; 145 [72] 155

Dall W. 112 [21] 124

D'Amato 306 [62] 309

Danielli J. E. 267 [9] 279

Daniels E. W. 268 [10] 279; 268 [11] 279; 268 [12] 279

Darby W. J. 237 [3] 250; 237 [17] 250

Davenport V. 254 [6] 262

David P. W. 213 [94] 218

Davidson G. P. 237 [15] 251; 239 [15] 251

Davidson J. V. 203 [9] 216

Davies J. V. 49 [31] 63; 52 [31] 63; 57 [45] 64

Davison P. F. 69 [32] 88; 73 [29] 88; 171 [48] 197

Day E. J. 123 [53] 124

Day P. L. 133 [12] 154; 133 [13] 154; 147 [85] 156; 148 [12] 154; 148 [13] 154; 151 [84] 156; 228 [59] 234

Dean C. 305 [55] 309

Decker A. B. 241 [48] 251

De Duve C. 289 [12] 308; 296 [12] 308

Deering R. A. 120 [46] 124

De Filippes F. M. 71 [23] 87; 74 [38] 88; 76 [38] 88; 163 [29] 196; 171 [43] 197

Dekleva-Zikar A. 210 [115] 215; 211 [115] 215

De Nicola N. 187 [105] 198

Denson J. K. 222 [6] 233; 224 [6] 233

Denson J. R. 256 [19] 262

Derooin J. 146 [75] 156

Desai A. M. 45 [21] 63

Devine R. L. 206 [45] 217

Dickman S. 136 [28] 154; 114 [33] 124; 116 [33] 124; 227 [50] 234

Dienes G. S. 34 [23] 39

Dietz A. B. 237 [6] 250

Dinning J. 228 [59] 234

Dixon F. 207 [54] 217; 208 [57] 217

Doll J. 239 [37] 251

Donlan J. A. 94 [16] 97

Doty D. M. 59 [48] 64; 59 [49] 64; 59 [50] 64; 76 [43] 88

Douben R. M. 213 [102] 218

Douglas C. S. 133 [12] 154; 133 [13] 154; 147 [84] 156; 147 [85] 156; 148 [12] 154; 148 [13] 154

Doull J. 230 [65] 234

Doyle B. 112 [22] 124

Drasil V. 282 [3] 308

Drew R. M. 71 [22] 87; 83 [69] 88; 171 [44] 197

Dreyfus G. 242 [53] 251

Dubois K. P. 146 [74-76] 155, 156; 230 [65] 235; 239 [37] 251

Dubouloz P. 244 [66] 251

Dugan L. R. 100 [8] 106

Duke D. C. 277 [67] 280

Dumas Y. 244 [66] 251

Duran L. 53 [34] 64; 59 [34] 64

Duryee W. R. 267 [6] 278; 267 [7] 279

Dwyer F. M. 224 [29] 234

Early J. C. 211 [97] 214; 213 [97] 218; 215 [97] 218

Ebert M. 163 [25] 196; 163 [26] 196

Edgerly R. H. 231 [78] 235

Edwards C. F. 258 [44] 263; 260 [44] 263; 260 [53] 263; 261 [44] 263; 261 [53] 263

Ehrenberg A. 295 [27] 309; 295 [28] 309

Ehrenberg L. 295 [27] 309; 295 [28] 309

Eichel H. J. 132 [5] 154; 132 [6] 154; 132 [7] 154; 132 [11] 154; 133 [16] 154; 138 [37] 155; 148 [89] 156; 227 [45] 234

Eidindof M. L. 71 [18] 87

Elko E. E. 237 [11] 250; 238 [11] 250; 239 [11] 250

Ellinger F. 237 [12] 250; 237 [13] 250; 237 [14] 250; 264 [3] 278; 277 [3] 278

Ellinger R. 282 [3] 308

Ellinwood L. E. 255 [16] 262; 255 [17] 262

Ellis F. 180 [93] 198; 190 [93] 198

Ellis M. E. 68 [14] 87; 161 [5] 196; 161 [6] 196; 161 [7] 196; 161 [8] 196

Ely J. O. 222 [8] 233

Engelstand O. 203 [9] 216

Entenmann C. 238 [28] 251; 238 [31] 251; 238 [32] 251; 215 [116] 219; 215 [117] 219; 215 [121] 219; 222 [11] 233; 223 [11] 233; 240 [39] 251; 242 [56] 251

Enterman C. 202 [16] 216; 213 [97] 218; 215 [97] 218; 215 [97] 218; 215 [121] 219; 216 [121] 219

Emmel V. M. 149 [91] 156

Ephrussi-Taylor H. 71 [21] 87; 163 [28] 196

Errera M. 148 [87] 156; 187 [104] 198; 189 [110] 198

Euler H. 176 [63] 197



- Eulera H. 136 [26] 154  
 Evans H. J. 255 [13] 262
- Fairbrother L. 295 [32] 309  
 Feinstein R. N. 135 [25] 154; 137 [33] 155; 140 [47] 155; 164 [32] 196; 213 [107] 219  
 Fell H. 277 [62] 280  
 Fellas N. M. 133 [12] 154; 148 [12] 154  
 Feng P. V. 32 [26] 39  
 Field J. A. 71 [20] 87; 171 [45] 197  
 Finkelstein C. 44 [8] 63  
 Finkle R. D. 225 [36] 234  
 Fisher M. 132 [2] 154; 202 [10] 216  
 Fisher W. 67 [8] 87; 68 [11] 87; 68 [12] 87  
 Fitch 146 [76] 156  
 Flesher A. M. 260 [52] 263; 261 [52] 263  
 Fletcher G. L. 113 [31] 124; 153 [103] 156; 153 [104] 156  
 Flood V. 55 [42] 64; 227 [46] 234  
 Fluke D. J. 83 [60] 88; 112 [25] 124  
 Forssberg A. 112 [20] 124; 229 [62] 234  
 Fox M. 110 [18] 123  
 Frank J. 43 [5] 63  
 Frantz J. D. 205 [46] 217; 206 [46] 217  
 Freeman P. 134 [4] 154; 133 [4] 154; 210 [74] 218  
 Frieldell H. L. 208 [56] 217  
 Fritz-Niggli H. 143 [60] 155; 143 [61] 155  
 Fröhlich H. 26 [3] 30  
 Froser M. J. 153 [100] 156  
 Fulton G. P. 255 [12] 264
- Gabrieli E. R. 209 [67] 218  
 Gaddum F. 277 [60] 280  
 Gadlewsky H. 244 [67] 251  
 Gaither N. 306 [58] 309  
 Gale E. F. 205 [40] 217  
 Garrison W. M. 53 [39] 64; 53 [40] 64; 53 [41] 64  
 Gary Bobo J. 306 [60] 309  
 Gassner E. 148 [90] 156; 149 [90] 156  
 Gaulden M. E. 191 [121] 199  
 Gavern K. 225 [39] 234  
 Geisselsoder J. L. 223 [23] 234; 224 [23] 234  
 Geissler A. W. 225 [39] 234  
 Gewitz H. S. 225 [39] 234  
 Gielbert M. 258 [37] 263  
 Giese A. C. 210 [75] 218  
 Gilles N. E. 306 [56] 309  
 Gillespie R. E. 233 [85] 235  
 Giordano G. 202 [14] 218  
 Giovanella B. 225 [40] 234  
 Girvin E. C. 258 [41] 263  
 Glegg R. E. 94 [10] 97  
 Glenn W. Y. 203 [23] 216
- Glinos A. D. 202 [18] 216  
 Gofman J. W. 238 [25] 251  
 Gold R. I. 240 [43], [45] 251  
 Goldblith S. E. 121 [49] 124; 121 [50] 124; 121 [51] 124; 135 [24] 154  
 Goldfeder A. 141 [55] 155  
 Goldwater M. N. 238 [28] 250  
 Goldwater W. H. 202 [16] 216  
 Gomsa J. 277 [73] 280  
 Gong I. K. 257 [32] 262  
 Goodman R. D. 254 [11] 262  
 Goodner C. F. 254 [6] 262; 255 [18] 262  
 Goranson E. C. 202 [19] 216  
 Gordon E. R. 133 [14] 154  
 Gordon L. E. 216 [123] 219  
 Gordon S. A. 140 [48] 155; 140 [49] 155; 141 [51] 155  
 Gordy W. 38 [38] 39; 43 [2] 63; 78 [49] 88; 105 [22] 106; 110 [15] 123; 294 [19] 308; 295 [20] 308  
 Goutier-Pirotte M. 148 [88] 156  
 Grabtree H. G. 224 [32] 234; 228 [58] 234  
 Gray E. J. 224 [6] 233; 256 [19] 262  
 Gray L. H. 26 [6] 30; 50 [32] 63; 114 [32] 124; 207 [55] 217; 228 [58] 234; 256 [19] 262; 284 [9] 308; 296 [34] 309  
 Greenstein G. 68 [16] 87  
 Grenan M. 228 [54] 234  
 Grief D. 227 [52] 234  
 Groham A. 180 [91] 198; 191 [91] 198  
 Gross C. 195 [140] 199; 212 [92] 218  
 Grossfill M. L. 305 [54] 309  
 Groul E. H. 276 [54] 280  
 Growther J. A. 295 [32] 309; 296 [33] 309  
 Grubin A. F. 94 [16] 97  
 Gude W. D. 94 [13] 97; 231 [75] 235  
 Guild W. R. 74 [38] 88; 76 [38] 88; 119 [43] 124; 163 [29] 196  
 Gustaffson A. 306 [62] 309  
 Gustafson G. E. 212 [87] 218  
 Gwatkin R. 180 [91] 198
- Haberland G. L. 213 [101] 218  
 Hahn P. 202 [8] 216  
 Hahne H. J. 216 [123] 219  
 Hale D. B. 224; 225 [35] 234; 237 [19] 251  
 Haley T. J. 258 [40] 263; 260 [52] 263; 261 [52] 263; 276 [57] 280  
 Hall J. 95 [18] 97  
 Halvorsen H. 210 [76] 218; 230 [67] 235  
 Hampton J. R. 137 [33] 155; 258 [41] 263  
 Hannan R. S. 36 [31] 39; 36 [33] 39; 99 [1] 106; 101 [10] 106



Hannel H. K. 240 [41] 251  
 Hardin C. A. 202 [17] 216  
 Harrington H. 177 [68] 197  
 Harris A. 205 [39] 217  
 Harris D. C. 211 [117] 219; 222 [11]  
 233; 223 [11] 233  
 Harrison A. P. 256 [24] 262  
 Harrison B. 120 [48] 124  
 Hart J. 123 [54] 124  
 Hartnett A. R. 203 [22] 216  
 Haves T. L. 238 [25] 251  
 Haymond H. R. 53 [39] 64  
 Heggen G. E. 258 [44] 263; 260, 261  
 [44] 263; 260, 261 [53] 263  
 Hempelmann L. H. 133 [14] 154; 144  
 [68, 69] 155; 147 [83] 156; 148 [86]  
 156; 148 [14] 148; 149 [90] 156;  
 147 [82] 156; 149 [91] 156; 151  
 [82, 83] 156; 213 [101] 218; 215  
 [120] 219  
 Hendley D. 135 [25] 154  
 Henkel D. T. 232 [84] 235  
 Hennesy T. J. 259 [49] 263  
 Herbert F. 256 [19] 262  
 Hercik F. 268 [16] 279  
 Hershey A. D. 73 [31] 88; 171 [49] 197  
 Herve A. 257 [35] 263; 297 [45] 309  
 Hess E. L. 163 [21] 196  
 Heungghem C. 237 [4] 250  
 Hevesy G. 176 [63—65] 197; 206 [43]  
 217; 229 [62, 63] 234; 258 [46—48]  
 265; 269 [30] 279; 242 [53] 251  
 Hewitt J. E. 238 [25] 251  
 Heyningen K. 134 [9, 10] 154  
 Hickman G. J. 103 [20] 106  
 Hickman J. 132 [8] 154; 141 [8, 53]  
 155; 224 [34] 234  
 Hicks S. 137 [29] 154  
 Hine G. J. 10 [6] 12  
 Hoffman J. G. 215 [120] 219  
 Höhne G. 133 [20] 154; 202 [11] 216  
 Hollaender A. E. 12 [8] 12; 68 [16] 87;  
 281 [1] 308; 306 [57] 309  
 Holmes B. E. 136 [27] 154; 179, 180 [81]  
 198; 190 [119] 198; 190, 191 [118]  
 198; 224 [33] 234; 269 [31] 279  
 Holroyd R. A. 28 [9] 30  
 Hoogland M. B. 205 [37] 217  
 Horgan V. Y. 244 [68, 71, 72] 252  
 Howe A. F. 95 [19] 97  
 Hovland G. 254 [7] 262  
 Hovsepian F. A. 253, 255 [1] 262  
 Howard A. 179 [77—80] 198; 180 [80]  
 198; 180 [90] 198; 190 [78, 80] 198;  
 191 [90] 198; 213 [93] 218  
 Howiesion J. L. 139 [39] 155  
 Huber W. 99 [5] 106  
 Hudson G. W. 230 [64] 234; 237 [17]  
 251; 240 [40] 251

Huff R. L. 259 [49] 263  
 Hunter C. G. 213 [99] 218  
 Hutchinson F. 15 [4] 24; 119 [38] 124;  
 119 [41] 124; 119 [43] 124; 153 [102]  
 156

Iammarino R. M. 183 [95] 198  
 Irving C. C. 225 [37] 234

Jackson L. 210 [76] 218  
 Jacobson L. 207 [53] 217  
 Jagger J. 119 [38] 124; 119 [42] 124  
 Jayson G. 32 [9] 39  
 Jhotte J. 212 [86] 218  
 Jenkinson E. L. 264 [2] 278  
 Jenson H. 256 [19] 262  
 Jicq A. 188 [110] 198  
 Jacobs S. 305 [55] 309  
 Johnes H. B. 238 [25] 251  
 Johnson E. A. 275 [44] 279  
 Johnson G. R. A. 34 [18] 39; 34 [19] 39  
 Johnston P. 47 [27] 63; 80 [60] 88; 115  
 [34] 124; 174 [57] 197  
 Johnston M. Y. 222 [7] 233  
 Jong J. 134 [21] 154; 139 [44] 155  
 Jortner J. 26 [4] 30  
 Joshi H. N. 162 [13] 196  
 Jung G. 9 [3] 12

Kanazir D. 187 [104] 198  
 Karpfel Z. 282 [3] 308  
 Katz E. L. 213 [95] 218; 215 [119] 219  
 Kaufman B. M. 178 [70] 197  
 Kaufman B. P. 68 [10] 87; 161 [4] 196  
 Kaulfuss M. 260, 261 [53] 263  
 Kay A. E. 215 [117] 219; 222, 223 [11]  
 233  
 Kay R. E. 215 [97] 218; 215 [116] 219;  
 215, 216 [121] 219; 213, 215 [97] 218  
 Keley J. W. 232 [83] 235  
 Keller E. B. 205 [36—38] 217  
 Keller M. 103 [21] 106  
 Kelley L. S. 178 [69] 197; 190 [116—  
 117] 198; 191 [122] 199  
 Kennedy J. V. 34 [26] 41  
 Keriakes J. C. 213 [98] 218  
 Kertesz Z. J. 94 [10, 11] 97  
 Kepp B. K. 46 [24] 65; 201 [2] 216  
 Kimball R. F. 306 [58] 309  
 King R. 133 [14] 154  
 King C. 99 [4] 106  
 Kirby K. S. 72 [25] 87; 165 [36] 197  
 Kirscher L. 228 [53] 234  
 Klein G. R. 258 [38—39] 263  
 Knuppen R. 254 [5] 262; 255 [5] 262  
 Koenig V. L. 45 [16] 63, 45 [17] 63  
 Kohn H. Y. 207 [52] 217; 237 [22] 250;  
 254 [8] 262



Koletsy S. 212 [87] 218  
 Kolousek J. 59 [47] 64  
 Komesy N. 260 [52] 263; 261 [52] 263  
 Korgaonkar K. S. 45 [21] 63; 162 [13, 14] 196  
 Kowlessar O. D. 147 [82, 83] 156; 148 [86] 156; 151 [82, 83] 156  
 Krise G. M. 213 [102] 218; 213 [103, 104] 219  
 Kumateri T. 180, 190 [93] 198  
 Kung H. 99 [4] 106  
 Kunkel H. A. 133 [20] 154; 202 [11] 216  
 Kurnick N. B. 133, 150, 151 [15] 154

Laban L. W. 268 [15] 279  
 Lagg S. E. 163 [21] 196  
 Laitha L. G. 180, 190 [93] 198; 259 [50] 263  
 Lamdin E. 206 [46] 217  
 Lamerton J. 258 [37] 263  
 Lamson B. G. 206 [46] 217  
 Landy M. 204 [31] 217  
 Lane T. B. 296 [33] 309  
 Lanker J. L. 269 [18] 279  
 Lappin G. R. 53, 54 [35] 64  
 Lartique O. 222, 224 [15] 233  
 Laser H. 112 [24] 124  
 Latarjet R. 71 [21] 87; 163 [28, 30] 196  
 Laviv M. 94 [11] 97  
 Laurent T. C. 95 [19] 97  
 Lawrence J. S. 207 [51] 217  
 Lea D. E. 26 [5] 30  
 Leber D. 213 [108] 219; 214 [114] 219  
 Lee W. A. 79 [52] 88  
 Lefort M. 28 [8] 30  
 Lehman V. 277 [74] 280  
 Leone C. A. 203 [22] 216  
 Leoni L. 140 [46] 155  
 Lerner S. R. 240 [39] 251  
 Lett J. T. 78 [45] 88; 78 [46] 88; 163 [22, 23] 186; 171 [47] 197  
 Lewis W. 99 [3] 106  
 Lichtler W. Y. 179 [84] 198  
 Liebmann H. 296 [33, 34] 309  
 Liebster J. 59 [47] 64  
 Lilly E. H. 240 [43, 45] 251  
 Limperos T. 74 [39] 88; 164, 174 [31] 196  
 Linder E. 204 [26] 217  
 Lindop P. J. 305 [54] 309  
 Lisco H. 215 [120] 219  
 Littlefield J. W. 205 [37, 38] 217  
 Loffer J. B. 232 [84] 235  
 Loftfield R. B. 205 [37, 39] 217  
 Logan R. 189 [110] 198; 189 [111] 198  
 Loken M. 109 [8] 123  
 Lomarque P. 306 [59, 60] 309  
 Londis P. W. 100 [8] 106

Long D. A. 101 [14] 106  
 Lotza L. V. 240 [45] 251  
 Louran Piters M. 241 [46] 251; 222 [5, 12] 233  
 Lourau M. 222 [10, 15] 233; 224 [15] 233  
 Low-Beer V. B. A. 139 [38] 155  
 Ludewig S. 258 [37] 263  
 Luippold H. E. 306 [61] 309  
 Lundberg W. O. 99, 101, 103 [6] 106  
 Lushbaugh C. C. 224, 225 [35] 234; 237 [19] 251; 254 [2] 262  
 Lovick P. 177 [68] 197  
 Luzzio A. J. 213 [98] 218

Maass H. 133 [20] 154; 225, 226 [38] 234; 210 [71] 218  
 Magat M. 34 [27] 39  
 Magee J. L. 10 [7] 12; 27 [7] 30  
 Magee Z. M. 203 [10] 216  
 Main R. K. 192 [126] 199  
 Maiswel M. 258 [44] 263  
 Mandel P. 195 [140] 199; 212 [92] 218  
 Manowitz B. 34 [23] 39  
 Marbach E. P. 59 [49] 64  
 Markakis G. 122 [52] 124  
 Marks E. 207 [53] 217  
 Martens H. H. 215 [118] 219  
 Martin F. L. 281 [1] 308  
 Martin J. L. 123 [54] 124  
 Marvin H. 109 [8] 123  
 Marvin J. F. 275 [43] 279  
 Massey B. M. 133, 150, 151 [15] 154  
 Masters R. 206 [46] 217  
 Matheson A. T. J. 73 [30] 88  
 Maurer H. J. 255 [15] 262  
 Maurer P. H. 208 [57] 217  
 Maxwell C. R. 53 [36] 64; 53 [37, 38] 64  
 Maxwell E. 142, 145 [58] 155  
 Maxwell R. D. 254 [9] 262  
 May M. L. 132 [1] 154  
 Mazia D. 45 [18] 63; 111 [19] 124  
 McBeth C. 203 [22] 216  
 McCabe 89 [4] 97; 90 [4] 97  
 McCandlees R. G. 238 [30] 251  
 McDonald M. R. 68 [10] 87; 108 [4] 123; 109 [5, 6] 123  
 McDougall B. M. 188 [108] 198  
 McKee R. W. 224 [26] 234  
 McLaughlin M. M. 133 [18] 154  
 McMillon C. 216 [124] 219  
 McNaughton G. S. 28 [10] 30  
 Mead J. F. 102 [15] 106  
 Mean Y. E. 241 [48] 251  
 Mee L. K. 112 [23] 124; 190 [119] 199  
 Mefford R. B. 215 [118] 219; 232 [84] 235; 241 [47] 251



Mende S. 202 [12] 216  
 Meneely G. R. 202 [8] 216  
 Meredith W. 50 [32] 63; 114 [32] 124  
 Meschan I. 133 [12] 154; 151 [84, 85] 156; 148 [12] 154  
 Meschankeith C. 228 [67] 234  
 Mesrobian R. B. 34 [23] 39  
 Meyniel G. 202 [12] 216  
 Miceli R. 94 [14] 97; 231 [74] 235  
 Michel K. F. 46 [23] 63; 201 [2] 216  
 Michelasis A. M. 90 [4] 97  
 Mikaelson K. 230 [67] 235  
 Milch L. H. 238 [26] 251  
 Miller C. P. 216 [123] 219  
 Miller L. L. 209 [65] 218  
 Mirsky A. E. 189 [112] 198; 192 [125] 199; 257 [29] 262  
 Miruno G. R. 99, 101, 103 [6] 106  
 Mitchell A. R. 46 [23] 63  
 Mitsno N. 123 [55] 124  
 Molle R. 228 [26] 234  
 Moore E. 109 [5, 6] 123  
 Morehouse M. G. 239 [38] 251  
 Morgan B. H. 94 [11] 97  
 Morgan P. 202 [12] 216  
 Moroson H. 76 [44] 88; 77 [45] 88; 163 [22] 196; 171 [47] 197  
 Mosher W. 164 [31] 196; 174 [31] 196; 74 [39] 88  
 Mosley V. M. 268 [15] 279  
 Mosser D. 109 [8] 123  
 Mosser F. G. 275 [43; 44] 279  
 Muller J. 269 [28] 279  
 Muntz J. A. 137 [32] 155; 202 [4] 216  
  
 Nakamura H. 221 [1] 233  
 Nakao J. 267 [8] 279  
 Nakayana H. 221 [1] 233  
 Neglin J. 258 [40] 263  
 Neve R. A. 238 [31] 251; 239 [36] 251  
 Nims L. F. 222 [9] 233; 223, 224 [23] 234; 239 [35] 251  
 Nisnhina J. 221 [1] 233  
 Nizet A. 257 [35] 263  
 Noonan T. R. 242 [55] 251  
 Nord F. 107 [2] 123  
 Norman A. 71 [20] 87; 171 [45] 197  
 Norris W. 134 [22] 154  
 Norsross C. 153 [102] 156  
 Northrop J. J. 107 [1] 123  
 Novikoff A. B. 291 [17] 308  
 Nugaard O. F. 179, 180 [89] 198; 193 [130] 199  
 Nyman M. A. 241 [47] 251  
  
 Ogawa Y. 208 [58] 217  
 Oharenko L. 45 [17] 63  
 Ohishi T. 123 [55] 124

Okada S. 36 [30] 39; 113 [31] 124, 144 [68] 155; 148 [12—14] 154; 133, 148 [14] 154; 148, 149 [90] 156; 151 [95] 156; 153 [103, 104] 156; 188 [106] 198  
 Oliver R. 180, 190 [93] 198  
 Olmstead C. A. 238 [31, 32] 251  
 Olson K. B. 258 [44] 263; 260 [44, 53] 263; 261 [44, 53] 263  
 Ord M. G. 142 [56] 155; 146 [77] 156; 167 [38] 197; 178 [73] 197; 179 [88] 198; 208 [60] 217; 267 [9] 279  
 Osawa S. 192 [125] 199  
 Ott H. 202 [7] 216  
 Ottolenghi A. 247 [80, 81, 83] 252  
 Overend W. G. 79 [53] 88  
  
 Paigen K. 178 [70] 197  
 Painter R. B. 191 [123] 199  
 Painter E. 276 [59] 280  
 Pake G. E. 110 [14] 123  
 Palecek 174, 183 [61] 197  
 Papee D. 202 [13] 216  
 Parizek J. 194 [135] 199  
 Paschke G. 203 [21] 216; 238 [27] 250  
 Passonneau J. 188 [107] 198  
 Pauly H. 146 [80] 156  
 Payne A. H. 178 [69] 197  
 Peachey E. 151 [95] 156  
 Peacocke A. R. 79 [52, 53, 54] 88  
 Pearson S. 99 [4] 106  
 Pelc S. R. 178 [77] 197; 178 [78] 198; 179 [79—80] 198; 180, 190 [80] 198; 190 [78] 198; 213 [93] 218  
 Perger F. 257 [31] 262  
 Perkinson J. O. 225 [37] 234  
 Perrings J. D. 45 [16] 63  
 Peters E. R. 174, 183 [60] 197  
 Peterson D. C. 53 [37, 38] 64  
 Peterson D. F. 146 [74] 155; 146 [75, 76] 156  
 Pfeifer H. 264 [2] 278  
 Phillips G. O. 90, 93 [5] 97; 93 [6] 97  
 Philpot Y. 244 [68, 71, 72] 252  
 Piatt J. 275 [42] 279  
 Pierce F. T. 238 [25] 251  
 Pillemera L. 203 [24] 217  
 Piller S. 202 [7] 216  
 Pirie A. 132 [9, 10] 154; 141, 142 [50] 155  
 Pisani G. 231 [77] 235  
 Platzman R. L. 26 [3] 30; 43 [5] 63  
 Polister B. H. 102 [15] 106  
 Pollard E. S. 15 [4] 24; 83 [69] 88; 119 [39] 124; 119 [43—45] 124  
 Pomanini A. 231 [77] 235  
 Porter J. R. 282 [6] 308  
 Portera B. W. 244 [72] 252  
 Potter R. L. 141, 142 [52] 155; 179, 180 [89] 198; 193 [130] 199



Potter V. R. 191 [118a] 198  
 Powell W. F. 119 [39] 124; 120 [45] 124  
 Powers E. L. 213 [95] 218; 215 [119] 219  
 Preston A. 79 [54] 88; 119 [41] 124  
 Priest S. G. 202 [15] 216  
 Privett O. S. 99, 101, 103 [6] 106  
 Procopto J. 216 [122] 219  
 Proctor B. E. 101 [14] 106; 135 [24] 154  
 Proctor V. R. 121 [49, 50, 51] 124  
 Prodi G. 94 [14] 97; 231 [74] 235  
 Proseer C. E. 202 [4] 216

Ragan N. 238 [29] 250; 238 [30] 251  
 Ragan C. 94 [16] 97  
 Rajewsky B. 146 [80] 156  
 Ranadive N. S. 162 [14] 196  
 Randall R. G. 66 [3] 87; 216 [124] 219  
 Rarchwitz H. K. Z. 254, 255 [5] 262  
 Raventos A. 275 [42] 279  
 Ray B. R. 45 [20] 63  
 Read J. 296 [34] 309  
 Reating R. P. 254 [9] 262  
 Redume S. H. 120 [45] 124  
 Rhodes R. P. 225 [36] 234  
 Richardson L. R. 123 [54] 124  
 Richmond C. R. 237 [22] 250; 240 [44] 251  
 Richmond J. E. 238 [27] 250; 218 [60] 217  
 Riley K. F. 276 [57] 280  
 Rixon R. H. 180 [92] 198; 191 [92] 198  
 Roberts S. 209 [66] 218  
 Robertson J. S. 191 [123] 199  
 Rode J. 269 [27] 279  
 Robson M. 207 [53] 217  
 Rollerston W. 254 [8] 262  
 Rohtstein A. 210 [72] 218  
 Roodin D. B. 244 [72] 252  
 Rooie P. G. 139 [39] 155  
 Rosen D. 110 [18] 123  
 Rosenfeld F. M. 66 [1] 87  
 Rosenthal R. L. 238 [24] 250  
 Ross M. N. 222 [8] 233  
 Rossa O. A. 203 [25] 216  
 Rotblat J. 305 [54] 309  
 Roth J. S. 132 [5-7, 11] 154; 138 [37] 155; 148 [89] 156; 227 [45] 234  
 Rothstein A. 256 [20] 262  
 Russel C. 112 [21] 124

Salerno P. R. 208 [56] 217  
 Salgado E. A. 216 [122] 219  
 Salmon W. D. 123 [53] 124  
 Sandeen G. 133, 150, 151 [15] 154  
 Sauberlich H. E. 123 [53] 124  
 Sawi A. 174 [57] 197

Schauenstein E. 244 [70] 252  
 Scheppard C. W. 254 [10] 262; 103 [19] 106  
 Scherman R. 226 [42] 234  
 Schields H. 38 [38] 39; 43 [2] 63; 295 [20] 308  
 Schejede O. A. 238 [29, 30] 250, 251  
 Schneider N. J. 275 [45] 279  
 Schneiderman H. 95 [18] 97  
 Schoenberg M. 95 [18] 97  
 Scholes G. 32, 34, 35, 36, 37 [8], 39 32 [9] 39; 34 [21, 22, 28] 39; 79 [57-59] 88; 80 [57, 59, 63-65] 88; 105 [23] 106  
 Schotte J. 212 [88] 218  
 Schreier K. 213 [101] 218  
 Schroder W. 225 [39] 234  
 Schubert G. 133 [20] 154; 225, 226 [38] 234  
 Schwartz M. S. 207 [55] 217  
 Schweigert B. 99 [3] 106  
 Searcy R. L. 240 [38] 251  
 Sebek-Klemens S. 213 [108] 219  
 Second H. N. 268 [11] 279  
 Segal G. 277 [63] 280  
 Selden G. L. 202 [15] 216  
 Selye H. 216 [122] 219  
 Setlow R. B. 44 [9] 63; 112 [22] 124; 119 [43] 124; 295 [30] 309  
 Seviere P. 228 [60] 234  
 Sharp L. M. 71 [18] 87  
 Sharpless N. E. 53 [36] 64  
 Shear M. 204 [31] 217  
 Shen-han T. M. 89 [4] 97  
 Shepherd H. J. 36 [31] 39; 101 [10] 106  
 Sherman F. G. 224 [29] 234; 242 [52] 251  
 Shields H. 110 [15] 123  
 Shooter K. V. 76 [42] 88  
 Simonovitch L. 180, 191 [91] 198  
 Simons S. 238 [29] 250  
 Simonson C. 237, 239 [15] 250  
 Simson P. 83 [70] 88  
 Slifer E. 227 [47] 234  
 Sliwinsky R. A. 59 [50] 64  
 Slosse A. 89 [1] 97  
 Smidt 237 [9] 250  
 Smith C. L. 45 [19] 63; 119 [40] 124; 153 [100] 156  
 Smith D. E. 133 [19] 154; 228 [54, 55] 234  
 Smith K. A. 71, 74, 76 [19] 87  
 Smith K. C. 139 [38] 155  
 Smith P. K. 179 [86] 198  
 Smith W. W. 233 [85] 235  
 Smithis O. 203 [20] 216  
 Sobertan R. J. 254 [9] 262  
 Salomon K. 237 [22] 250; 240 [44] 251; 242 [55] 251



Sorbey O. 99 [5] 106  
 Soska J. 282 [3] 308  
 Sowinski R. 45 [17] 63  
 Sparrow A. H. 66 [1] 86; 297 [44] 309  
 Spence W. P. 22 [7] 233  
 Spiegelman S. 210 [73] 218  
 Spiers F. D. 139 [41] 155  
 Sribney M. 99 [3] 106  
 Stabile J. N. 133 [18] 154  
 Stacey K. 76 [44, 45] 88; 78 [47] 88;  
 83 [68] 88; 94 [8] 97; 110 [18] 123;  
 163 [22, 23] 196; 171 [47] 197  
 Stadman L. T. 237 [21] 250  
 Stanuad J. N. 256 [22, 23] 262  
 Stapleton G. E. 256 [24] 262; 281 [1]  
 308; 290 [14] 308; 306 [14, 57] 309  
 Steadman L. T. 224 [30] 234  
 Stearner S. P. 195 [137] 199  
 Steffenson D. 257 [33] 262  
 Steggerda F. 277 [64] 280  
 Stein J. 26 [4] 30; 51 [33] 64; 80 [64]  
 88; 112 [23] 124  
 Steinberg 237 [6] 250  
 Stenstrom J. 109 [8] 123  
 Stenstrom K. W. 275 [43, 44] 279  
 Stets Y. F. 202 [15] 216  
 Stevans K. M. 207 [55] 217  
 Stevens L. 144 [69] 155  
 Stewart K. 237, 239 [3] 250  
 Stohlman F. E. 257 [36] 263  
 Stocken L. A. 142 [56] 155; 143 [62, 63]  
 155; 144 [62, 68, 69] 155; 146 [77]  
 156; 167 [38] 197; 178 [73] 197; 179  
 [88] 198; 192 [127] 199; 208  
 [60] 217  
 Storer Y. B. 178 [72] 197  
 Strauch L. 213 [108] 219; 214 [114, 115]  
 219; 215 [115] 219  
 Sudak F. N. 255 [12] 262  
 Suippold H. E. 230 [66] 234  
 Suit H. D. 259 [50] 263  
 Supplee H. 238 [32] 251  
 Sussman A. S. 230 [68] 235  
 Sutton E. 222 [9] 233; 239 [35] 251  
 Sutton F. 254 [2] 262  
 Sutton G. 213 [98] 218  
 Svedberg T. 43 [1] 63; 295 [29] 309  
 Swallow A. J. 25 [2] 30  
 Swenson J. 132 [4] 154; 133 [4] 154  
 Swenson P. A. 210 [75, 77] 218  
 Swingley W. 254 [8] 262  
 Syverton J. 137 [30] 154  
  
 Tabachnick F. 254 [3] 262  
 Tabachnick J. 213 [100] 218  
 Tahmisian T. N. 206 [45] 217  
 Talmadge P. 112 [26] 124  
 Talmage D. W. 207 [54] 217; 208 [57]  
 217

Tanada T. 256 [25] 262  
 Tappel A. L. 53 [34] 64; 59 [34] 62; 296  
 [39] 309  
 Taylor B. 68 [16] 87  
 Taylor W. 34 [22] 39  
 Ten Haven P. 34 [12] 39; 101 [12] 106  
 Tertian R. 202 [13] 216  
 Tew J. 256 [19] 262  
 Thomas C. A. J. 73 [30] 88  
 Thompson H. E. 224 [30] 234  
 Thomson J. F. 133 [19] 154; 141 [54]  
 155; 178 [72] 197  
 Thomson Y. P. 179, 180 [82] 198  
 Thonnard A. 148 [88] 156  
 Tiliaferro L. G. 207 [50] 217  
 Tiliaferro W. H. 207 [50] 217  
 Till Y. 180, 191 [91] 198  
 Tolbert N. E. 221 [3] 233  
 Totter J. 188 [107] 198  
 Tourtellotte W. W. 151 [54] 155; 178—  
 180 [82] 198  
 Townsen J. 110 [14] 123  
 Trum B. F. 258 [40] 263  
 Tsukamoto R. 237 [20] 250  
 Tuttle L. W. 94 [1] 97  
  
 Upton A. C. 94 [13] 97; 231 [75] 235  
 Urbach K. 277 [61] 280  
  
 Vaughan G. 94 [8] 97  
 Varga V. 95 [19] 97; 203 [14] 216; 231  
 [79] 235  
 Vermund H. 242 [57] 251; 275 [43, 44]  
 279  
 Vigne Y. 244 [66] 251  
 Vittorio P. V. 222 [7] 233  
 Vogel H. H. 268 [11, 12] 279  
 Vogel M. 254 [11] 262  
 Volken W. 225 [39] 234  
 Von Lanker J. L. 178 [74] 197; 191  
 [118a] 198  
 Vorbodt A. 145 [73] 155  
  
 Walwick E. R. 192 [126] 199  
 Warburg O. 225 [39] 234  
 Ward J. F. 80 [63] 88  
 Warner W. L. 240 [43] 251  
 Wase A. 132 [7] 154  
 Watson T. D. 75 [41] 88  
 Webb M. 147 [81] 156  
 Weber R. P. 140 [48] 155; 277 [64] 280  
 Webster E. W. 253, 255 [1] 262  
 Webster G. S. 189 [113] 198  
 Webster W. D. 241 [47] 251  
 Weeks B. M. 53 [39—41] 64  
 Weiner N. 238 [26] 250  
 Weinmann E. O. 242 [56] 251  
 Weinstein T. S. 260, 261 [53] 263  
 Weiss C. 254 [3] 262; 214 [100] 218



Weiss J. 31 [1—4] 38; 32, 34—37 [8]  
 38; 32 [9] 39; 34 [18, 19, 21, 22, 28]  
 39; 51, 61 [33] 64; 79 [57, 59] 88; 80  
 [57, 59] 88; 80 [63—65] 88; 104 [21]  
 106; 105 [23] 106  
 Wenwarth J. 137 [31] 155  
 Werder A. A. 202 [17] 216  
 Weston J. C. 255 [13] 262  
 Westphal U. 202 [15] 216  
 Weymouth P. 151 [94] 156; 179 [83] 198  
 Wharton D. R. A. 254 [4] 262  
 Wharton M. L. 254 [4] 262  
 Wheeler C. M. 79, 80 [59] 88; 34 [28]  
 39  
 White A. 209 [66] 218  
 Whitfield Y. F. 180, 191 [92] 198  
 Whitmore G. 180, 191 [91] 198  
 Wickoff R. W. 268 [15] 279  
 Wilbur K. M. 67 [8] 87; 247 [79] 252;  
 247 [81, 82] 252  
 Wilde W. S. 254 [10] 262  
 Wilkerson M. C. 237, 239 [3] 250  
 Williams C. M. 213 [102—104] 218  
 Williams G. 276 [57] 280  
 William-Ulrich J. 240 [41] 251  
 Wilson C. W. 139 [43] 155

Wilson D. E. 113 [30] 124; 119 [42] 124  
 Wilson S. 79 [53] 88  
 Wilson S. M. 306 [58] 309  
 Wilson J. E. 255 [16, 17] 262  
 Winkler C. 203 [21] 216; 238 [27] 250  
 Wite H. 213 [94] 218  
 Wite W. C. 53 [37] 64  
 Wolff S. 230 [66] 235; 307 [61] 309  
 Wolfrom M. L. 89, 90 [4] 97  
 Wolkwitz W. 137 [32] 155  
 Woodard H. Q. 135 [23] 154; 139 [41,  
 42] 155  
 Wright B. J. 206 [45] 217  
 Yardetzky C. D. 242 [57] 251  
 Yen C. Y. 179 [86] 198  
 Yenotte Y. 239 [34] 251  
 Zamechnik P. C. 205 [35—37] 217  
 Zavik P. 177 [67] 197  
 Zeichere H. 264 [2] 278  
 Zill L. P. 221 [3] 233  
 Zimmer K. G. 295 [27] 309  
 Zentz E. A. 258 [42] 263  
 Zirkle R. E. 268 [13, 14] 279  
 Zwerg H. G. 277 [66] 280

ПРЕДМЕ

Аденило  
 Аденин  
 301  
 Аденозин  
 Аденозин  
 Аденозин  
 82, 20  
 Аденозин  
 134, 1  
 Адреноэ  
 Азотный  
 Активные  
 радика  
 Аланин  
 Альбуми  
 Альдола  
 Альфа-из  
 иониз  
 масса  
 плотн  
 пробе  
 скоро  
 энерг  
 Амилаза  
 Амилоли  
 Аминокис  
 выход  
 дезам  
 58, 6  
 декарб  
 нонны  
 образ  
 — ка  
 54  
 — се  
 поли  
 распа  
 сульб  
 цикл  
 Аномаль  
 178, 2  
 276, 2  
 Антиагр  
 Антиген  
 Антимит  
 269, 2



## ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Адениловая кислота 81  
Аденин 81, 82, 177, 179, 183, 187—189, 301  
Аденозин 189  
Аденозиндеззминаза 133  
Аденозинтрифосфорная кислота 81, 82, 205, 300  
Аденозинтрифосфатаза 114, 132—134, 145, 146  
Адреноэргические вещества 223, 224  
Азотный обмен, нарушение 212, 213  
Активные радикалы см. Свободные радикалы  
Аланин 36, 49, 52—54, 138, 206  
Альбумин 202, 203  
Альдолаза 134  
Альфа-излучение 6, 15, 20, 28  
    ионизирующая способность 20  
    масса  $\alpha$ -частицы 20  
    плотность ионизации 21  
    пробег  $\alpha$ -частиц 18, 21  
    скорость  $\alpha$ -частиц 20  
    энергия 20, 21  
Амилаза 119  
Амиллиз 224  
Аминокислоты (действие радиации)  
    выход аммиака 49, 50  
    дезаминирование 49, 50, 51, 52, 57, 58, 61, 63, 301  
    декарбоксилирование 49, 52—54, 63  
    ионный выход реакции 50, 51  
    образование гидроперекисей 36  
    — карбонильных соединений 53, 54  
    — сероводорода 57, 58  
    полимеризация 46  
    распад 49, 50, 60, 61, 215  
    сульфгидрильные группы 56, 57  
    циклические аминокислоты 59—63  
Аномальные метоболиты 59, 128, 142, 178, 213, 265, 266, 268, 269, 273, 275, 276, 278, 285, 305  
Антиагрегирующие вещества 45  
Антигенные свойства белка 211, 212  
Антимитотические вещества 188, 192, 269, 270, 272  
Антиоксиданты 102, 103, 247  
Аргинин 36, 47, 49, 52, 54  
Аскорбиновая кислота 120, 233  
Аспарагиновая кислота 53, 54, 75, 185  
Атомные лучи 22, 23  
Ауксин 140, 141  
Ацетилхолин 242, 297  
  
Белки (действие радиации)  
    автолиз 214  
    агрегация 45  
    активация протеолитических ферментов 213, 214, 216  
    активные группы, покрывающие поверхность белковой глобулы, 29, 47, 59, 60  
    включение меченых предшественников 206, 207, 209—211  
    возбужденное состояние 42—44  
    вторичные изменения 202  
    выделение сероводорода 57, 59  
    декарбоксилирование 63  
    делокализация неспаренных электронов см. Неспаренные электроны  
    денатурационные изменения 42—44, 46, 47, 62, 63, 86, 120, 201, 204, 207  
    димеризация 44  
    изменение аминокислотного состава 201, 202, 204  
    — антигенной структуры 211, 212  
    — оптических свойств 63  
    — поверхностного потенциала 42, 296  
    — сорбционных свойств 63  
    ионизация 42  
    консервация энергии см. Консервация энергии  
    миграция энергии см. Миграция энергии  
    мономолекулярные слои 45, 46, 63, 111, 112  
    надмолекулярные структуры см.



Надмолекулярные структуры  
 не прямое действие 41, 42, 202  
 образование свободнорадикально-  
 го состояния 43, 45, 296  
 образование «сшивок» см. Обра-  
 зование «сшивок»  
 окисление радикалов гетероци-  
 клических аминокислот 63  
 окисление фенольных радикалов  
 63  
 полимеризация 45  
 прямое действие 41, 42  
 разбавленные растворы 41, 42, 44—  
 48, 201  
 разрыв внутримолекулярных свя-  
 зей 42  
 — водородных связей 42  
 — пептидных связей 87  
 распад 45, 63, 128, 212—216, 298,  
 299  
 синтез 205—210, 212, 253, 283, 298,  
 302, 305  
 — адаптивных белков-ферментов  
 205, 210  
 — антител 207, 208  
 — качественно измененных белков  
 206, 210, 302  
 — специфических белков 207, 212  
 скрытые повреждения 43, 44  
 сульфгидрильные группы 44, 47,  
 54—59, 63, 294  
 сухие препараты 41, 42, 45, 86, 87,  
 111  
 эффект последствий 46

Белковые структуры 41, 127, 302, 303  
 Бензойная кислота 61  
 Бензол 61  
 Бета-излучение 6, 15, 16  
 взаимодействие с веществом 16  
 плотность ионизации 17, 18  
 пробег  $\beta$ -частиц 15—17  
 энергия 6  
 Биологическое действие радиации  
 см. Механизм биологического дей-  
 ствия радиации  
 Биохимия радиационная см. Ради-  
 ционная биохимия  
 Брожение 224, 226

Валин 36, 54  
 Витамин А см. Каротин  
 — В<sub>1</sub> см. Тиамин  
 — В<sub>2</sub> см. Рибофлавин  
 — В<sub>6</sub> см. Пиридоксин  
 — В<sub>12</sub> 122, 123  
 — С см. Аскорбиновая кислота  
 — РР см. Никотиновая кислота

— пантотеновая кислота см. Пантоте-  
 новая кислота  
 — фолиевая кислота см. Фолиевая  
 кислота

Витамины (действие радиации)  
 активность 122  
 водные растворы 120, 122, 123  
 защитный эффект 120  
 концентрационный эффект 120, 121  
 не прямое действие 121—123  
 распад 121, 122

Вода (действие радиации)  
 возбуждение молекул 25  
 время жизни ионизированных мо-  
 лекул 31  
 — — промежуточных радикалов  
 31  
 — — свободных радикалов 27  
 ионизация молекул 25, 26  
 образование перекиси водорода  
 27, 28, 29  
 — радикалов водорода 26, 27, 28,  
 29  
 — — гидроксила 26, 27, 28, 29  
 — — гидропероксида 29  
 радиолиз воды 28, 294

Возбужденные состояния молекул 10,  
 42—44, 294, 295

Восстановительные процессы 27, 303,  
 306, 307

Вторичные нарушения 127, 128, 131,  
 134—136, 138, 145, 146, 154, 164, 171,  
 175, 202, 220, 228, 229, 239, 302  
 — электроны 20, 26

Галактозидаза дрожжевая 210  
 Гамма-излучение 6, 8, 15, 18—20  
 глубинная доза 19  
 плотность ионизации 18  
 поверхностная доза 19  
 поглощение веществом 19, 20  
 поглощенная энергия 18  
 проникающая способность 19  
 энергия 6, 19

Гексан 97  
 Гексозофосфаты 136  
 Гексокиназа 113, 133, 136, 223  
 Гем 86, 87  
 Гемоглобин 258, 259, 276  
 Гемолизины 207, 275, 276  
 Гемолитический фактор 264, 275  
 Гемоцианин 43  
 Генетические повреждения 160, 182,  
 284, 286, 302, 306  
 Гепарин 95, 232  
 Гиалоплазма 148, 151, 211, 212  
 Гиалуронидаза 232  
 Гиалуроновая кислота 94—96, 230—  
 232



Гидрокортизон 151  
 3 $\beta$ -Гидроксипрегнан — 5 ен — 20 он  
 104  
 Гидроперекиси 33—37, 80, 105  
 Гидропероксид 28, 29, 32—34, 57  
 Гипоксантин 81  
 Гистон 45, 46  
 Гистамин 280, 281  
 Гистидин 36, 47, 49, 54  
 — моногидрохлорид 49  
 Гликоген 46, 222—225, 237  
 Гликокол 50—53, 55, 59, 206  
 Гликолевый альдегид, 52, 53  
 Гликолиз 133, 136, 210, 224—226, 300  
 Глиоксалева кислота 53  
 $\beta$ -Глицерофосфат 135  
 $\beta$ -Глицерофосфатаза 145  
 $\alpha$ -Глицерофосфатдегидрогеназа 134  
 Глицил-лейцин 36, 49  
 Глицин 36, 49, 53, 54, 218  
 — ацетилированный 49  
 Глицинангидрид 49  
 Глобулин 202, 203  
 Глобулярные белки 47  
 Глюкоза 89, 90, 93, 224, 226, 229, 241  
 Глюкозо-6-фосфат дегидрогеназа см.  
 Дегидрогеназа глюкозо-6-фосфата  
 Глюконовая кислота 92, 93, 96  
 Глюкопротеиды 84, 231  
 Глюкопротеины 203  
 Глюкуроновая кислота 92, 93  
 Глютамат 138  
 Глютамико-щавелевоуксусная - транс-  
 аминаза 133  
 Глютамино - пируват - трансаминаза  
 133  
 Глютаминовая кислота 36, 54  
 Глютатион 55  
 — необратимое окисление сульфгид-  
 рильных групп 56, 57  
 — ионный выход 57  
 Говяжий жир 99  
 Гуанидин 52  
 Гуанин 81, 177, 184, 187  
 Гуморальные факторы см. Нейрогу-  
 моральные факторы  
  
 Дегидрогеназа глицерофосфата 134  
 — глюкозо-6-фосфата 134  
 — глютаминовой кислоты 133, 134  
 — изолимонной кислоты 132  
 — малеиновой кислоты 133  
 — молочной кислоты 132, 134  
 — триозофосфата 132  
 — фосфоглицеринового альдегида 114,  
 115, 117, 133, 134  
 — яблочной кислоты 132, 134  
 — янтарной кислоты 132, 134  
 Дегидрогеназы 131

Дезоксикортикостерон 37  
 Дезоксирибонуклеаза I 114, 147—150  
 — II 133, 147—150  
 Дезоксирибонуклеазы 113, 133, 147—  
 151, 170, 174, 175, 297, 299, 302  
 Дезоксирибонуклеиновая кислота  
 (действие радиации)  
 агрегация 70  
 включение меченых предшествен-  
 ников 176, 177—179, 192, 268  
 вторичные изменения 171, 175  
 выход аммиака 80  
 — фосфорной кислоты 82  
 дегидроксилирование 83  
 дезагрегация двойной спирали 83,  
 300  
 дезаминирование 80, 81, 83, 84  
 действие радикалов OH и NO<sub>2</sub>  
 74—76  
 делокализация неспаренных элек-  
 тронов. см. Неспаренные элек-  
 троны  
 деполимеризация 70, 71, 74, 75, 161,  
 164, 165, 282, 197—299  
 защитное действие различных ор-  
 ганических веществ 74  
 изменение структуры 76—78, 164,  
 170  
 — физико-химических свойств 66, 67,  
 69—77, 79, 83, 164—167, 170, 171,  
 173, 174  
 изолированные ядра 161, 175, 189,  
 190  
 in vivo 164, 165, 167, 170—172, 179,  
 182, 183, 189, 192, 269  
 клетки 165, 171, 172, 191  
 концентрационный эффект 74  
 миграция энергии см. Миграция  
 энергии  
 надмолекулярные структуры см.  
 Надмолекулярные структуры  
 не прямое действие 74, 75, 77, 83,  
 171  
 нуклеотидный состав 174, 185,  
 187—189  
 образование гидроперекисей 34,  
 35, 80  
 — свободных радикалов 78, 79  
 — «сшивок» см. Образование  
 «сшивок»  
 окисление сахара 83  
 полимеризационные спектры 167—  
 169, 170  
 прямое действие 75, 76, 83  
 разбавленные растворы 69—75, 77,  
 79—82  
 разрыв водородных связей 79  
 — нуклеотидных цепей 83



— связей сахар — основание 83  
 распад (деградация) 70, 77, 81—  
 83, 165, 167, 170, 172, 174, 175,  
 189, 193, 195, 297  
 синтез 144—146, 173, 175—180,  
 182—185, 188—192, 195, 269, 287,  
 298—301, 305  
 — качественно измененной ДНК  
 175, 178, 182, 184, 187, 188, 190,  
 192, 193, 195, 298, 300, 301  
 скрытые повреждения 187  
 сухие препараты и концентриро-  
 ванные растворы 74, 76, 77, 78,  
 84  
 трансформирующая ДНК см.  
 Трансформирующая ДНК  
 эффект последствия 79, 80  
 — самозащиты 82  
 Дезоксирибонуклеопротеид, натрие-  
 вая соль 86  
 Дезоксирибонуклеопротеиды (дейст-  
 вие радиации)  
 агрегация 67  
 изменение физико-химических  
 свойств 66—68, 161, 162  
 лабилизация связей ДНК — белок  
 68, 163  
 повышение атакующести протео-  
 литическими ферментами 68  
 распад 66, 68, 161, 162  
 синтез 177  
 скрытые повреждения 68  
 Дезоксиуридилат 188  
 Дезокситидин 35, 194, 195  
 Дейтроны 6, 7  
 Декарбоксилаза аргинина 146, 147  
 Декстран 233  
 Дельта-излучение 21  
 Деполимераза ДНК 111, 112, 165  
 Деполимеразы нуклеиновых кислот  
 149, 165  
 Дзета-потенциал 29, 42, 256, 257, 295,  
 296, 302  
 Диаминоянтарная кислота 53, 54  
 Диглицилглицин 49  
 Дикетопиперазин 49  
 — ацетилированный 49  
 2,3-Димеркаптопропанол 55  
 Дистанционный эффект 269  
 1,3-Дитиолпропан 56  
 2,3-Дитиопропанол 56  
 Дифосфопиридиннуклеотид 81, 225,  
 300  
 Дифференциация клеток 160  
 Длительность жизни возбужденных  
 молекул и ионов 22, 31  
 Дрожжевая алкогольдегидрогеназа  
 115  
 — галактозидаза 210

Дрожжевые культуры 132, 179, 226,  
 227  
 Дыхание 132, 136, 224—230, 303  
 Жирные кислоты 99, 103, 104, 229,  
 236, 239, 240, 241, 247, 275  
 Жировая инфильтрация органов 229,  
 237  
 Жировой обмен 237—239  
 Жиры 36, 98—102, 236  
 окислительный распад 100  
 Защитный эффект 42, 46, 59, 74, 82,  
 109, 112, 114, 116—120, 127, 131,  
 132, 201, 233, 274, 306, 307  
 Защитные вещества  
 l-аланин 117  
 альбумин 109  
 вещества семихиноидной природы  
 274  
 — содержащие сульфгидрильные  
 группы 114  
 взвесь митохондрий 114  
 вирус табачной мозаики 117  
 гематопорфирин 109  
 На-гиппурат 117  
 гликоген 46  
 гликокол 59  
 глицин 117  
 глюкоза 59, 74, 109, 117, 120, 131  
 глутатион 112, 116—118, 131  
 декстран 233  
 иодистый калий, соли 76  
 кристаллический яичный белок 117  
 лейцил-глицин 117  
 липополисахариды 233  
 малеиновая кислота 116  
 мочевины 117  
 На-нуклеат 117  
 На-оксалат 117  
 пиромен 233  
 пропионгаллат 102  
 сахароза 117, 142  
 смола Даукс — 50, 113  
 сукцинат 112  
 формиат 117  
 На-формиат 117  
 фруктоза 117  
 цистамин 109  
 цистеин 109, 112  
 l-цистеин 132  
 цистин 112, 118  
 щавелевокислый натрий 117  
 яичный альбумин 59, 74  
 Изолейцин 36  
 Импеданс ткани 296  
 Инвертаза 119, 151, 152  
 Индолацетальдегид 141  
 Индолуксусная кислота 141



Инулин 46, 94  
Иодбензоат 137  
Ионизация молекул 16, 25, 26, 31, 42, 294, 295  
Ионизирующие излучения  
    взаимодействие с веществом 7, 10, 11, 23  
    вторичные процессы 12  
    ионный выход реакции 12  
    квантовый выход реакции 11, 12  
    комптоновское (некогерентное) рассеяние 11, 19, 20  
    корпускулярное 5—11, 15—17, 22, 23  
    образование пар 11, 19, 20  
    первичные процессы 12  
    плотность ионизации 17, 18, 21, 23  
    фотоэлектрическое поглощение 11, 19, 20  
    электромагнитное 5—9, 15, 19, 20  
    энергия фотонов 6, 10, 11, 19

Казеин 44, 122  
Каприловая кислота 103  
Карбоксигемоглобин 86  
Карбоксипептидаза 113, 117, 131, 213  
Каротин 121  
Каталаза 44, 55, 56, 112, 120, 130, 135, 137, 138, 144, 153, 227, 276  
Катепсины 213, 214, 297, 299, 302  
Катодные лучи 15  
7-Кетохоланиевая кислота 104  
Киназа фосфоглицерина 133  
Кислородный эффект 44, 56, 57, 62, 110, 112, 256

Клетка  
    гиалоплазма см. Гиалоплазма  
    гибель клетки 194, 281, 285, 299, 303, 305  
    дифференциация 285  
    клеточные структуры 131, 141, 154, 158, 175, 209, 265, 281, 285—287, 290, 296, 305  
    лизис 302, 303  
    лизосомы см. Лизосомы  
    микросомы см. Микросомы  
    митоз 65, 160, 172, 175, 179, 191, 194, 195, 269, 271, 272, 274, 275, 285, 299, 301, 302, 305  
    митохондрии см. Митохондрии  
    мутации 287, 299, 301  
    обмен веществ 242, 265, 267—269, 283, 285, 286, 288, 289, 302, 303, 305, 306  
    образование гигантских клеток 299, 300, 304  
    период интерфазы 190, 191  
    проницаемость см. Проницаемость  
        внутриклеточных мембран

    строение 291, 292, 294  
    рост 160  
    хромосомы см. Хромосомы  
    цитоплазма см. Цитоплазма  
    эргастоплазма см. Эргастоплазма  
    ядра см. Ядра клеток  
Коллаген 209  
Консервация пищевых продуктов 41, 122  
    — энергии 43, 44, 62, 110, 295  
Концентрационный эффект 74, 108, 109, 116, 120, 121  
Конъюгированные системы 87  
Координированное действие ферментов 30, 107, 128, 153, 287, 297, 298  
Координированность биохимических процессов 107  
Коровий жир см. Сливочное масло  
Кортизол 37  
Кортизон 37, 137  
Космическое излучение 6, 15  
Коэнзим А 153  
Крахмал 94  
Креатинурия 213  
Ксантин 81  
Ксантиноксидаза 112, 132  
Кукурузное масло 100

Лактоза 93  
Лактон 104  
Лауриновая кислота 99, 103  
Лейкопения 276, 277  
Лейцил-глицил глицин 36  
Лейцил-глицин 36, 49  
Лейцил-тирозин 36  
Лейцин 36, 50, 54  
Лизин 52, 54, 208  
    — моногидрохлорид 49  
Лизосомы 291, 296, 297, 299, 302, 304  
Лимонная кислота 230  
Лимфоциты 149  
Линолиевая кислота 99, 100  
    — метиловый эфир 100, 102  
Липемия 238  
Липиды (действие радиации)  
    аутоокисление 100, 101  
    включение меченых предшественников 239—241  
    вторичные изменения 239  
    гидрогенизация 102, 103  
    декарбоксилирование 103, 106  
    непрямое действие 202  
    обмен 236—239, 241, 242, 249, 250, 275  
    образование карбонильных соединений 101—103, 105, 106  
    — перекисей 99—103, 105, 236, 244—249, 296  
    — радикалов 101, 105



- окисление 103—105, 241, 247—249
- полимеризация 103, 106
- распад 102, 103, 236, 241, 247, 248
- синтез 236, 242
- цепные реакции окисления и образования перекисей 101, 105, 247
- эффект последствия 100
- Липооксидазы 152, 249
- Липопротеиды 82, 98, 243, 250, 297
- Липопротеины 238, 243
- Лучевая стерилизация пищевых продуктов см. Консервация пищевых продуктов и Стерилизация пищевых продуктов
- Лярд 100, 102
- Макрофаги 149
- Мальтоза 90, 91, 143
- Мануроновая кислота 90, 91
- Метиллинолеат 99
- Метилолеинат 99
- Метионин 49, 54, 59, 206—208
- Механизм биологического действия радиации 17, 58, 137, 264, 266, 267, 283, 287, 290
- Миграция энергии 43, 62, 175, 294, 300
- Микросомы 146, 158, 205, 208, 209, 211, 212, 242, 301
- Минеральный обмен (действие радиации)
  - вода 253, 254
  - железо 257—260
  - калий 192, 254—257, 296
  - кальций 257, 302
  - кобальт 260
  - магний 296, 302
  - марганец 260, 261
  - медь 260
  - натрий 192, 254—257, 296
  - рубидий 256
  - хлор 254—256
  - цинк 260, 261
- Миоглобин 258, 259
- Миозин 44, 46, 109, 110, 201
- Миокиназа 133
- Мочевая кислота 195
- Митохондрии 137, 141—144, 146, 148, 158, 162, 164, 175, 192, 205, 208, 209, 211, 212, 243, 249, 250, 265, 266, 291—296, 298, 300, 303—305
- Молочная кислота 100
- Моноаминокарбоновые кислоты 52
- Мукополисахариды 94, 95, 96, 221, 231, 232, 242, 243, 297, 299
- Муравьинокислый натрий 177
- Надмолекулярные структуры 41, 72, 73, 74, 83, 159, 160, 165, 171, 172, 174, 175, 265, 283
- Натриевая соль дезоксирибонуклеопротеида см. Дезоксирибонуклеопротеид, натриевая соль
- Нарушение обменных процессов 180, 182, 189, 190, 204, 212, 220, 226, 228—230, 232, 236—239, 241, 242, 249, 250, 265—269, 275, 278, 283, 285—289, 302, 303, 305, 306
- Нейробласты 137
- Нейрогуморальные факторы 128, 131, 146, 193, 196, 202, 204, 213, 220, 224, 236, 237, 241, 253, 260, 269, 305
- Нейтральные жиры 237
- Нейтроны 8, 10, 20, 21, 22
  - быстрые 8, 20
  - взаимодействие с веществом 21, 22
  - медленные 21, 22
  - плотность ионизации 22
  - поглощение ядром 21, 22
  - «поток нейтронов» 10
  - рассеяние 21, 22
  - столкновение с протонами 22
  - тепловые 21, 22
  - энергия 21
- Ненасыщенные жирные кислоты 103, 236, 238, 294
- Непрямое действие радиации 41, 42, 50, 74, 75, 77, 83, 121, 123, 127, 131, 133, 171, 202, 283, 287, 294
- Неспаренные электроны 43, 78, 295
- Никотиновая кислота 120, 121
- Норлейцин 36
- Нуклеазы 35, 112, 113, 131, 132, 151, 161, 167, 174
- Нуклеиновый обмен 193
- Нуклеозидфосфорилаза 133
- Нуклеогистон 66
- Нуклеопротеиды (действие радиации)
  - агрегация 67
  - вторичные нарушения 164
  - денатурация 162
  - деполимеризация 64
  - изменение структуры 158—161
  - физико-химических свойств 64—66, 161, 162
  - лабилизация связи нуклеиновая кислота — белок 161, 164
  - образование «сшивок» нуклеопротеидных цепей 163
  - полимеризация 66
  - распад 160
  - синтез 177
- 5-Нуклеотидаза 133, 145
- Нуклеотиды 35, 65, 194
- Обнаружение свободных радикалов методом ЭПР 43, 78, 105, 295



Образование «сшивок» 45, 78, 84, 163, 296

— токсических веществ 128, 193, 210, 237, 260, 264, 265, 267—269, 272, 273, 275—278, 283, 287, 305

Обмен воды 253, 254

Обменные процессы см. Нарушение обменных процессов

Окисление сульфгидрильных групп см. Сульфгидрильные группы

Окислительное фосфорилирование 141—144, 187, 192, 193, 205, 212, 257, 287, 298—300, 305

Окислительные процессы 137, 141, 228, 229, 250, 306

Оксидаза d-аминокислот 112, 117, 118

Оксипролин 36, 54

Оксифенил, радикал 62

Олеиновая кислота 99, 102, 103, 247

Олигосахариды 93, 94

Органические перекиси см. Перекиси органические

Оротовая кислота 177, 185, 189, 190, 191

Пальмитиновая кислота 103, 247

— метиловый эфир 100, 102

Пантотеновая кислота 122, 123

Папаин 119

Пектин 94

Пепсин 119

Пептиды 36, 52, 205, 299

Первичное действие радиации см. Прямое и Непрямое действие радиации

Перекиси органические 32—34, 37, 51, 55—57, 72, 82, 105

Перекиси неорганические 37

Перекиси органические 32—34, 37, 38, 101, 102, 105, 249

выход при облучении стероидов 37

квантовый выход реакции 33

липидные перекиси см. Липиды

образование 32, 33, 34

окислительный распад 101

цепной механизм образования см. Цепные реакции образования перекисей

Пероксидаза 111, 119, 152

Пиридоксин 122, 123

Пиримидиновые основания 35, 80, 174, 183, 185, 186, 190, 300

Пировиноградная кислота 100, 143, 226

Пируват 138

Плотность ионизации 17, 18, 21, 22, 23

Плотность ионов, образуемая различными ионизирующими частицами 23

Подсолнечное масло 101, 102

Полимераза ДНК 300

Полимеризация 45, 46, 66, 103, 106, 158, 159

Полимеразы 144, 298

Полипептиды 159, 160, 301

Полисахариδο-белковые комплексы 46—48, 232

Полисахариды 46, 94, 230—233

Полифенолоксидаза 152, 230, 273

Полифосфат тимидина 187

Полифосфаты 187

Полифосфорный эфир тимина 187

Полиэлектролиты клеточных оболочек см. Дзета-потенциал

Полиэтиленовые кислоты 102

Последействие радиационное 46, 79, 80, 100, 108—110, 135, 164

Пострадиационные воздействия 281, 282

Преднизолон 37

Преднизон 37

Проколлаген 209

Пролин 49, 54

— ацетилированный 49

Проницаемость внутриклеточных мембран 142, 144, 151, 154, 204, 214, 216, 242, 243, 256, 288, 289, 297—299, 302, 303

— кожи 231

— стенок сосудов 232

— тканевых барьеров 232

— тканей 230—233, 256

Пропан-1,3-дитиол 55

Пропердин 203, 204

Протеиды 159

Простые сахара 89, 90, 91

Протоны 6, 15

— отдачи 22

Прямое действие радиации 34, 41, 42, 75, 76, 83, 127, 128, 130, 131, 283, 287, 294

Пуриновые основания 84, 174, 176, 177, 183, 187, 189, 190

Рад, единица поглощенной энергии 10

Радиационная биохимия 9, 34

Радикалы см. Свободные радикалы

Радиомиметические вещества 137, 202

«Расплавление» биологических структур 299

Растительное масло 99, 102

Раффиноза 93, 94

Рентген, единица дозы излучения 9

Рентгеновское излучение 5, 6, 15, 18—20

плотность ионизации 18

поглощение веществом 19, 20



поглощенная энергия 18  
 проникающая способность 19  
 физическая характеристика 18, 19  
 энергия 6  
 Ретикулярные клетки 149  
 Рибонуклеаза 113, 133, 148, 150, 151, 206, 297, 299  
 Рибонуклеиновая кислота (действие радиации)  
   выход аммиака 80, 81  
   обмен 193  
   образование гидроперекисей 34, 35  
   — свободных радикалов 78  
   распад 82, 175, 206, 297  
   синтез 145, 177, 178, 179, 183, 185, 189, 191, 193, 299, 305  
   — качественно измененной РНК 206  
 Рибонуклеопротейиды 160, 162, 175, 205, 209, 294, 296  
 Рибонуклеопротейины 163  
 Рибофлавин 121, 122, 123, 267  
 Рыбий жир 99  
  
 Сальмин 46  
 Сахарная кислота 92, 93  
 Сахароза 93  
 Свиной жир 99  
 Свободные радикалы, органические 8, 33, 38, 43, 45, 51, 52, 53, 57, 62, 78, 101, 105, 111, 284, 285, 296  
   — — воды 26—29, 32, 42, 47, 52, 61, 74, 75, 82, 284, 294, 295  
   — — гидропероксида 28, 29, 32, 47, 74, 75, 82  
   — — пероксида 33, 34, 101, 111  
 Семихиноны 274, 275  
 Серин 47, 50, 52, 53, 54, 294  
 L-Серин 50  
 Синтетическая диета 122  
 Скрытые повреждения 43, 44, 68, 110, 135, 187  
 Сливочное масло 99  
 Сорбит 90, 91  
 Стеариновая кислота, эфир 102, 103  
 Стерилизация медицинских препаратов 41  
   — пищевых продуктов 59, 89, 99, 101  
 Стероиды 104  
 Стероиды 103  
 Структуры, связанные с жизнью 157, 158, 159  
 Сукцинат 138  
 Сукциндегидрогеназа 132, 134, 145  
 Сукциноксидаза 115, 116, 132, 134, 136, 145  
 Сульфгидрильные группы см. Аминокислоты, Белки и Ферменты

Сывороточный альбумин 44, 46, 47  
 Схема действия защитных и восстанавливающих веществ 307  
   — механизма радиобиологического повреждения клетки 284  
   — нарушений на молекулярном уровне 276  
   — основных этапов радиационного повреждения 304  
   — первичных процессов при лучевом повреждении 286  
   — развития радиационного повреждения организма 288  
 Схематическая картина развития радиационного поражения клетки 289—291, 294—307  
 Таурин 215  
 Теория мишени 264, 265, 281, 298  
 Тетрагидрофолиевая кислота 188  
 Тиамин 122, 123, 226  
 Тимидилат 188  
 Тимидин 144, 179, 180, 181, 182, 184, 187—189, 191, 193, 195, 196  
 Тимидинкиназа 300, 301  
 Тимидиновые кольца 175, 295, 300  
 Тимин 35, 80, 174, 175, 177, 179, 180, 181, 183—186, 188—301  
 Тиолы 55—57  
 Тирозин 47, 54, 60, 86, 213, 273  
 Тирозиназа 152  
 Тканевое дыхание см. Дыхание  
 Токсические вещества см. Образование токсических веществ  
 Токсические свойства крови 277  
 Транстриолы 103  
 Трансформирующая ДНК 71, 163, 171  
 Треонин 47, 54  
 Тригидроксиаллопрегнан-20-он 104  
 Триглицериды 238  
 Трипсин 107—110, 119, 130  
 Триптофан 47, 54, 60, 140, 141  
 Тристеаринат 109  
 Трифосфонуклеотид полимеразы 144  
 Углеводы (действие радиации)  
   вторичные нарушения 228, 229  
   гидролиз 93, 95, 96, 133  
   деполимеризация 94—96, 230, 231  
   дыхание см. Дыхание  
   изменение физико-химических свойств 94, 95  
   обмен 220, 226, 228—232, 236, 239, 250  
   распад 94, 95, 96, 223—225, 229, 230,  
   — окислительный 93, 96, 229, 230, 241  
   синтез 220, 221, 222, 223, 229  
   фотосинтез 221, 222



Удельная ионизация 17  
 Урацил 35, 183, 185, 189  
 Уреаза 59, 115, 116, 119  
 Уридин 35  
 Уридиловая кислота 35, 189  
 Уреидоядерная кислота 179  
 Фенилаланин 36, 46, 54, 60, 208  
 Фенил, радикал 62  
 Фенольные соединения, активация окисления 63, 273  
 Ферменты (действие радиации)  
   активность 56, 58, 107, 108, 110, 111, 112, 114, 115, 119, 131, 132, 135—138, 144—149, 151—154, 214, 260, 261, 282, 283, 287, 297, 301  
   вторичные изменения 128, 131, 134—136, 138, 145, 146, 154  
   гомогенаты 133, 134, 141, 143  
   дыхательные 132, 136  
   десорбция с клеточных органелл 151  
   живые системы и клетки 119, 130—133, 153  
   концентрационный эффект 108, 109, 116  
   мономолекулярные слои 111, 112  
   нарушение координированного действия см. Координированное действие ферментов  
   необратимое окисление 116  
   непрямое действие 131, 133  
   прямое действие 130, 131  
   разбавленные растворы 59, 107—109, 112, 113, 115—119, 131, 133, 282  
   синтез 151, 205, 210, 301  
   скрытые повреждения 110, 135  
   сорбируемость 297, 298  
   сульфгидрильные группы 114—116, 136, 137  
   сухие препараты 108, 113, 130  
   удельная активность 139  
   эффект последствия 108—110, 135, 164  
     — защиты 120  
     — самозащиты 109  
 Фибриноген 45, 202  
 Фолиевая кислота 122, 123, 185, 187  
 Формиат 117, 179, 188, 189  
 Фосфатаза 119, 134, 135, 139, 140, 297  
   — адениловой кислоты 139  
   — уридиловой кислоты 139  
   — фосфопротеинов 140  
   — цитидиловой кислоты 139  
   — щелочная 134, 135, 139  
 Фосфоглицераткиназа 134  
 Фосфоглицериндегидрогеназа 116  
 Фосфоглюкомутаза 152

Фосфолипаза 247  
 Фосфолипиды 237—239, 242, 247, 297  
 Фосфоглицеральдегид - дегидрогеназа см. Дегидрогеназа фосфоглицеринового альдегида  
 Фосфопротеины 140  
 Фосфорилаза 152  
 Фосфоролиз 224  
 Фруктоза 89, 90, 93  
 Фэр, физический эквивалент рентгена 10

Хиноноподобные вещества 273, 274  
 Хиноны 273, 274, 300  
 Хлоропласты 151, 152  
 Холестерин 239, 240, 241  
 — янтарнокислый, натриевая соль 103  
 Холестан — 3 $\beta$ :5 $\alpha$ :6 $\beta$ -триол 103  
 Холиевая кислота 104  
 Холин 123, 137, 138, 139  
 Холинэстераза 153  
 Хромопротеиды 84  
 Хромосомы 164, 173, 175, 179, 257, 267, 290, 298, 300, 301, 306

Целлюлоза 94  
 Цепные биохимические процессы 34, 51, 266, 267, 278  
 — реакции образования перекисей 33, 34, 38, 248, 275, 278  
 — — квантовый выход 12  
 — — окисления 105, 175, 249, 296  
 — — самоускоряющиеся 275, 278  
 Циклогексан 109  
 Цистеин 45, 47, 49, 54, 57, 58  
 — гидрохлорид 57, 58  
 Цистин 43  
 Цитидиловая кислота 35, 139, 188  
 Цитидин 35, 179  
 Цитозин 35, 175, 177, 183, 185, 188, 301  
 Цитозиновые кольца 175  
 Цитоплазма 142, 162, 164, 179, 190, 194, 196, 211, 212, 268, 269, 300, 301, 302  
 Цитоплазмальный фактор 300, 301  
 Цитохром б 258  
 Цитохром с 84—86, 112, 142, 298  
 Цитохромный эффект 142  
 Цитохромоксидаза 112, 130, 132, 145  
 Цитохромредуктаза 132

Щелочная фосфатаза см. Фосфатаза щелочная

Электрический заряд на поверхности мембран см. Дзета-потенциал  
 Электромагнитное излучение, неионизирующее 7, 8  
 взаимодействие с веществом 7



инфракрасные лучи 7  
миллиметровые лучи 7  
область видимого света 7  
радиоволны 7  
ультракороткие 7  
ультрафиолетовое излучение (УФ)  
7  
электромагнитные волны 7  
Электроны, ускоренные потоки 6, 15,  
16  
Эндогенное выделение азота 212  
— дыхание 136  
Эндоплазматический ретикулум 291,  
296  
Эргастоплазма 209  
Эргостерин 241  
Эритроза 93

Эстрон 104, 103  
Эфир олеиновой кислоты 102  
Эффективный атомный номер 24  
Эффект радиационного последствия  
см. Последствие радиационное

Ядра клеток 65, 68, 143, 144, 146,  
160—162, 172, 173, 175, 179, 187, 188,  
195, 196, 208, 209, 211, 212, 256, 257,  
265, 267, 268, 274, 275, 295, 298—300,  
302, 304

Яичный альбумин 42, 57

Янтарная кислота 53, 54

Янтарнокислый холестерин, натрие-  
вая соль см. Холестерин янтарно-  
кислый



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие . . . . .	3
Введение . . . . .	5

### I раздел

#### ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА БИОЛОГИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ ВЕЩЕСТВА

1 глава. Физическая характеристика ионизирующих излучений и их взаимодействия с веществом . . . . .	15
2 глава. Действие ионизирующих излучений на воду . . . . .	25
3 глава. Образование перекисей под влиянием ионизирующей радиации . . . . .	31
4 глава. Действие ионизирующих излучений на простые белки и продукты их распада . . . . .	40
5 глава. Действие ионизирующих излучений на нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды и другие сложные белки . . . . .	65
6 глава. Действие ионизирующих излучений на углеводы . . . . .	89
7 глава. Действие ионизирующих излучений на липиды . . . . .	98
8 глава. Действие ионизирующих излучений на ферменты и витамины . . . . .	107

### II раздел

#### ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ НА СОСТОЯНИЕ И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ И ТКАНЯХ

1 глава. Влияние ионизирующей радиации на активность ферментов <i>in vivo</i> . . . . .	130
2 глава. Влияние ионизирующей радиации на состояние и обмен нуклеопротеидов и нуклеиновых кислот . . . . .	157
3 глава. Влияние ионизирующей радиации на обмен белков . . . . .	200
4 глава. Влияние ионизирующей радиации на углеводный обмен . . . . .	220
5 глава. Влияние ионизирующей радиации на обмен липидов . . . . .	236
6 глава. Влияние ионизирующей радиации на минеральный обмен . . . . .	253
7 глава. Образование токсических веществ в облученном организме . . . . .	264
8 глава. Биофизико-химическая интерпретация лучевого поражения клетки . . . . .	281
Заключение . . . . .	310
Именной указатель . . . . .	311
Предметный указатель . . . . .	325



Александр Михайлович Кузин

Раднационная биохимия

Утверждено к печати Институтом биофизики  
Академии наук СССР

Редактор Издательства Л. Б. Горбачева

Художник А. Г. Сорензон

Технический редактор О. М. Гуськова

РИСО АН СССР № 97А-60. Сдано в набор 30/VII 1962 г.  
Подписано к печати 29/XII 1962 г. Формат 60×90<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Печ. л. 21+5 вкл. Уч.-издат. л. 21,7+0,3 вкл.  
Тираж 5000 экз. Т-15428. Изд. № 947. Тип. зак. № 5277.

**1 руб. 72 коп.**

Издательство Академии наук СССР.  
Москва, Б-62, Подсосенский пер., 21  
2-я типография Издательства АН СССР.  
Москва, Г-99, Шубинский пер., 10

ОПЕЧ		
Страница	Строка	
47	15 св.	Пере
331	24 св.	
А. М. Кузин. Радиаци		



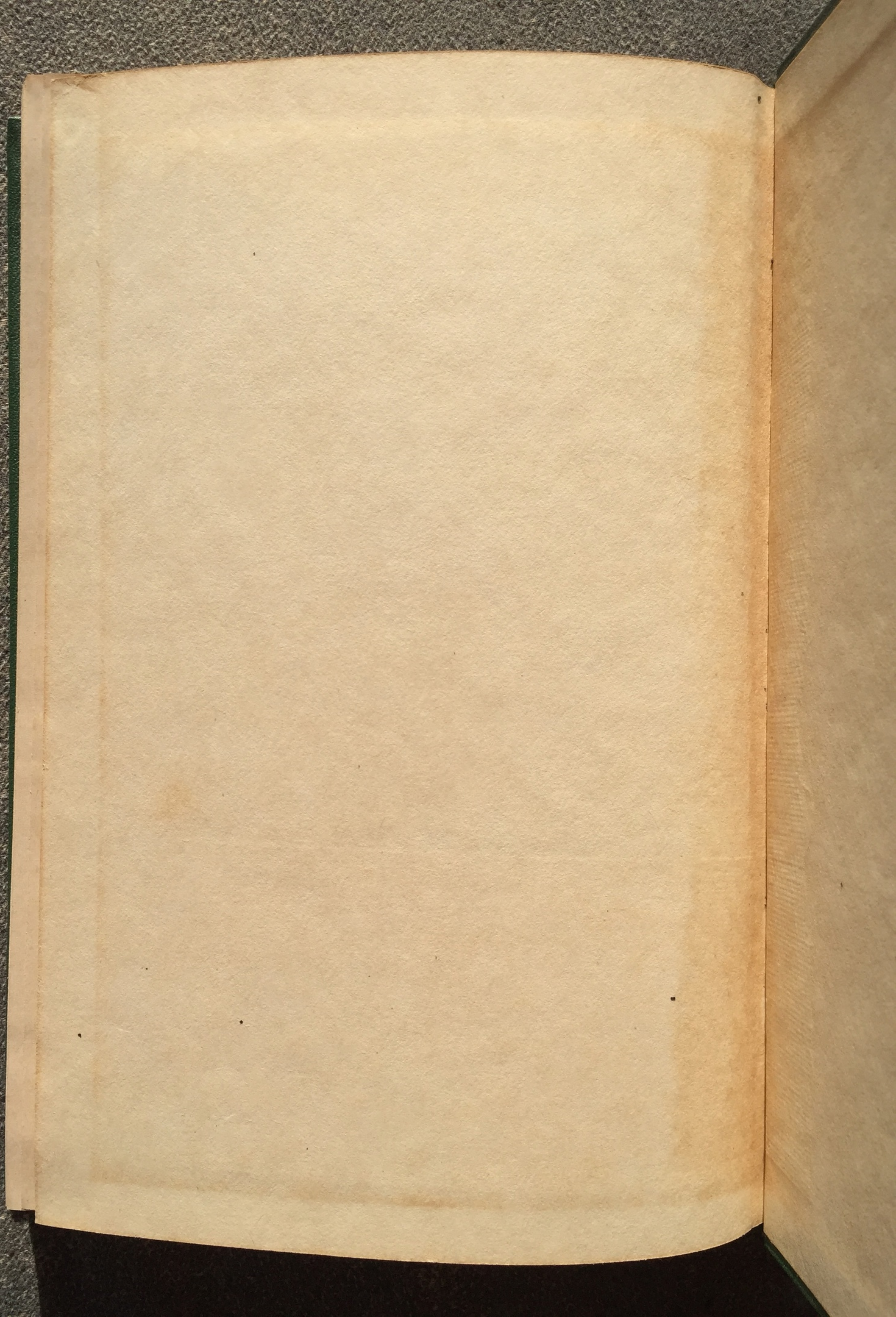
II 1962 г.  
0×90<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
вкл.  
№ 5277.  
2 коп.

# ОПЕЧАТКИ И ИСПРАВЛЕНИЯ

Страница	Строка	Напечатано	Должно быть
47	15 св.	16—60 тыс.	10—60 тыс.
331	24 сн.	Перекиси органические 32—34, 37,	Перекись водорода 27—29, 31—33,

А. М. Кузин. Радиационная биохимия.











1972 г.

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР



PAVINO  
FARM

IX  
3  
IX  
1  
IX